مجله دانشکده پیراپزشکی دانشگاه علوم پزشکی تهران (پیاورد سلامت) دوره ۹ شماره ۵ آذر و دی ۱۳۹٤، ٤٦٨-٤٥٩

مقاله پژوهشی

بررسی بیان ژن CK19 در بیماران مبتلا به سرطان ریه نوع NSCLC و مقایسه آن با بیومارکر پروتئینی آنتی‌ژن سرطان جنینی در خون محیطی

دکتر عبدالرضا محمدنیا[۱]، دکتر شیرین کریمی[۲]، دکتر رضا یادگار آذری[۳]، دکتر سید علیرضا ناجی[٤]، دکتر عدنان خسروی[٥]، دکتر نغمه بهرامی[٦]، دکتر مسعود سعیدی جم[۷]

چکیده

زمینه و هدف: سرطان ریه شایع‌ترین سرطان بین مردان در سراسر جهان به شمار می‌رود. هدف از انجام این تحقیق تعیین میزان بیان ژن CK19 و بیومارکر پروتئینی به نام آنتی‌ژن سرطانی جنینی(CEA) در خون محیطی مبتلایان می‌باشد.

روش بررسی: ۳۰ بیمار مبتلا به سرطان ریه نوع NSCLC با ۳۰ فرد سالم مقایسه شدند. پس از گرفتن خون محیطی و استخراج Total RNA، cDNA ساخته شد و سپس با روش Real-time RT-PCR بررسی و نتایج حاصل بررسی گردید. سپس CEA با روش ELISA اندازه‌گیری شد.

یافته‌ها: ژن CK19 در گروه بیماران در ۷ نفر از ۳۰ نفر مثبت گردید که نشان‌دهنده‌ی حساسیت برابر ۲۳/۳٪ است. مقایسه‌ی آماری میزان مثبت‌شدن این مارکر در بیماران و افراد سالم که با استفاده از آزمون Two-Sample Binomial انجام شد، بیانگر تفاوت آماری معنی‌داری بین این دو گروه بود(Pvalue<۰/۰۰۱). سطح سرمی مارکر CEA در گروه بیماران در ۱۱ نفر از ۳۰ نفر مثبت گردید. میانگین سطح سرمی مارکر CEA در گروه بیماران از گروه شاهد بیشتر بود و این تفاوت از نظر آماری معنی‌دار شد(Pvalue<۰/۰۰۱). حساسیت این آزمون برابر ۳٦/٦٪ است.

نتیجه‌گیری: این مطالعه نشان داد که ck19 mRNA مارکری اختصاصی درخون محیطی جهت تشخیص مقدماتی سرطان ریه است. همچنین مشخص گردید که CEA می‌تواند به عنوان مارکر اختصاصی در تشخیص زود هنگام سرطان ریه در خون محیطی بیماران باشد.

واژه‌های کلیدی: سرطان ریه، بیومارکر، ژن CK19، آنتی‌ژن جنینی سرطان، خون محیطی

* نویسنده مسئول :
دکتر مسعود سعیدی جم؛
مرکز تحقیقات پزشکی مولکولی دانشگاه علوم پزشکی همدان
Email :
sjam110@yahoo.com

- دریافت مقاله : مهر ۱۳۹٤ پذیرش مقاله : دی ۱۳۹٤

مقدمه

سرطان ریه شایع‌ترین سرطان بین مردان در سراسر جهان به شمار می‌رود. آمار نشان می‌دهد که قربانیان سرطان‌های سینه، پروستات و روده در مجموع کمتر از تعداد قربانیان سرطان ریه هستند(۱). منشا بیش از ۹۰٪ سرطان‌های ریه، تغییرات در سلول‌های اپیتلیوم بازال ریه و لایه‌ی پوششی ریه است(۲). سرطان‌های اپی تلیالی ریه ٤ گروه اصلی سلولی دارد که شامل موارد زیر است: سرطان سلول کوچک ریه (SCLC یا Small Cell Lung Cancer)، و گروه

[۱] استادیار مرکز تحقیقات ویروس شناسی، پژوهشکده سل و بیماری‌های ریوی، مرکز آموزشی، پژوهشی و درمانی سل و بیماری‌های ریوی، بیمارستان دکتر مسیح دانشوری، گروه بیوتکنولوژی و پزشکی مولکولی، دانشکده فن‌آوری‌های نوین پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی، تهران، ایران
[۲] دانشیار مرکز تحقیقات مایکوباکتریولوژی، پژوهشکده سل و بیماری های ریوی، مرکز آموزشی، پژوهشی و درمانی سل و بیماری های ریوی، بیمارستان دکتر مسیح دانشوری، دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی، تهران، ایران
[۳] استادیار گروه پزشکی مولکولی و ژنتیک، دانشکده پزشکی، مرکز تحقیقات پزشکی مولکولی، دانشگاه علوم پزشکی همدان، همدان، ایران
[٤] دانشیار مرکز تحقیقات ویروس شناسی، پژوهشکده سل و بیماری های ریوی، مرکز آموزشی، پژوهشی و درمانی سل و بیماریهای ریوی، بیمارستان دکتر مسیح دانشوری، دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی، تهران، ایران
[٥] استادیار مرکز تحقیقات پیشگیری و کنترل دخانیات، پژوهشکده سل و بیماری های ریوی، مرکز آموزشی، پژوهشی و درمانی سل و بیماریهای ریوی، بیمارستان دکتر مسیح دانشوری، دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی، تهران، ایران
[٦] استادیار گروه جراحی فک و صورت، دانشکده دندانپزشکی، مرکز تحقیقات جراحی های فک و صورت، دانشگاه علوم پزشکی تهران، تهران، ایران
[۷] استاد گروه پزشکی مولکولی و ژنتیک، دانشکده پزشکی، مرکز تحقیقات پزشکی مولکولی، دانشگاه علوم پزشکی همدان، همدان، ایران

[Downloaded from payavard.tums.ac.ir on 2026-06-14]

دیگر سرطان سلول غیر کوچک ریه (NSCLC یا Non-Small Cell Lung Cancer) که شامل آدنوکارسینوم، کارسینوم سلول سنگفرشی و کارسینوم سلول بزرگ است(۳). تنها ۱۳٪ مبتلایان به سرطان ریه پنج سال پس از تشخیص زنده می‌مانند. در ۳۰ سال گذشته بهبود چندانی در روش‌های درمان سرطان ریه صورت نگرفته است. سیگار کشیدن عامل خطر اصلی برای ایجاد سرطان ریه است، زیرا که خطر ایجاد سرطان ریه در سیگاریها حدود ۲۰ برابر بیشتر از غیرسیگاریهاست. اکثر کسانی که بر اثر سرطان ریه می‌میرند، سیگاری هستند(۲).

امروزه با ارزیابی بیان بیومارکرهای mRNA می‌توان سلول‌های سرطانی در بافت‌های خاص را تشخیص داد. این بیومارکرها را می‌توان از سلول‌های سرطانی که در خون محیطی هستند به دست آورد(٤). روش‌های مختلفی جهت بررسی و ارزیابی این مارکرها وجود دارد که یکی از مهمترین آنها روش PCR است(۵) که حساسیت بالایی داشته و البته می‌توان با انجام تکرار نمونه از بیماران مقدار حساسیت را افزایش داد(۷و٦).

سیتوکراتین ۱۹، پروتئین ٦۵ کیلودالتونی است که به میزان بسیار کم در سلول‌های اپی تلیال شاخه برونش و به فراوانی در سلول‌های کارسینوما تولید می‌گردد(۹و۸). این فاکتور اولین بار در سال ۱۹۹۳ به عنوان نشانگر تومور در سرطان ریه معرفی شد. بیان بالای سیتوکراتین ۱۹ باعث تمایز(Pro MMP-2 یا Promatrix MetalloProteinase2) از (Pro MMP-9 یا Promatrix MetalloProteinase9) و تبدیل آنها به MMP بالغ و به دنبال آن هضم ماتریکس خارج سلولی توسط متالو پروتئین پروتئاز شده و این امر باعث متاستاز سلول‌های سرطانی می‌شود(۱۰).

آنتی‌ژن سرطانی جنینی(CEA یا Carcinoembryonic Antigen) گلیکوپروتئینی است که فقط در کبد جنین تولید می‌گردد و پس از آن متوقف می‌شود. این ترکیب در افراد مبتلا به سرطان ریه و پانکراس نیز تولید می‌شود و در دسته‌ی آنتی‌ژن‌های توموری جنینی قرار می‌گیرد. در این سرطان‌ها فاکتور(TGF-β یا Transforming Growth Factor -β) که در چسبندگی سلول به ماتریکس و از طرفی در تنظیم بیان CEA نقش دارد، کاهش می یابد و این امر باعث افزایش میزان CEA و متاستاز سلول سرطانی می‌گردد(۱۱). کاهش میزان آن در حین درمان نشانه مهار رشد سلول‌های سرطانی بیمار است(۱۲).

با وجود پژوهش‌های گسترده برروی مارکرهای سرطان ریه، هنوز مارکر واحدی که قابلیت استفاده بالینی جهت تشخیص زودرس، بررسی عود و متاستاز، تعیین پیش‌آگهی و یا پاسخ به درمان را دارا بوده و حساسیت و اختصاصی‌بودن آن قابل قبول باشد، یافت نشده است. هدف از این مطالعه، تعیین و معرفی بیان ژن CK19 در بیماران مبتلا به سرطان ریه نوع NSCLC در خون محیطی در مرحله اولیه تهاجم سلولهای تومورال به خون، و استفاده از این بیومارکرها جهت پیش‌بینی مراحل ابتدایی سرطان ریه می‌باشد.

روش بررسی

این مطالعه از نوع مورد- شاهد بود. ۳۰ بیمار مراجعه‌کننده به بیمارستان مسیح دانشوری دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی در سال ۱۳۹۱ پس از تشخیص توسط متخصص و قبل از انجام هرگونه برنامه درمانی انتخاب شدند، و ۳۰ فرد سالم نیز

[Downloaded from payavard.tums.ac.ir on 2026-06-14]

پس از معاینه پزشکی به طور داوطلبانه و پس از تکمیل رضایت‌نامه در این پژوهش شرکت کردند. ملاک خروج این گروه از این پژوهش، سابقه درمان طبی و یا جراحی بیماری بود.

حجم نمونه با در نظرگرفتن درصد مثبت بودن مارکرها در دو گروه که برآورد اولیه آن از مطالعات مشابه اخذ شده بود، محاسبه شد. تعداد نمونه با در نظر گرفتن ۵٪ خطای نوع اول(α=۰/۰۵) و ۲۰٪ خطای نوع دوم(β=۰/۲۰)، تعداد ۲۵ نمونه مورد و ۲۵ نمونه شاهد برآورد شد که جهت افزایش توان آماری تحقیق این مقادیر به ۳۰ نفر افزایش یافت. مقایسه‌ی میانگین‌ها بین دو گروه با استفاده از آزمون آماری t-test و مقایسه‌ی درصد مثبت‌شدن مارکرها در دو گروه با کمک آزمون مقایسه‌ی نسبت‌ها (Two-Sample Binomial) انجام شد، و اختلاف در سطح $P\leq$۰/۰۵ معنی‌دار تلقی گردید.

از تمامی داوطلبانی که تمایل به همکاری داشتند رضایت‌نامه کتبی اخذ شد. سپس از کلیه افراد مشارکت‌کننده در این پژوهش، ۱۲ میلی‌لیتر نمونه خون محیطی گرفته شد. در هنگام خون‌گیری، ۲ میلی‌لیتر ابتدایی به دلیل احتمال آلودگی با سلول‌های اپی تلیال دور ریخته شد. ۱۰ میلی‌لیتر نمونه باقی‌مانده به دو قسمت ۸ و ۲ میلی‌لیتری تقسیم شد که قسمت اول وارد فالکون حاوی ماده ضد انعقادی EDTA گردید و قسمت دوم جهت استخراج سرم به صورت لخته درآمد، و در نهایت هر دو در ظرف حاوی یخ به آزمایشگاه منتقل گردیدند. قبل از شروع استخراج RNA باید گلبول‌های قرمز خون لیزشده و هموگلوبین حاصل از آن از نمونه حذف می‌گردید.

بدین منظور از محلول لیزات گلبول‌های قرمز استفاده شد. سپس رسوب حاصل(شامل گلبول‌های سفید و سلول‌های توموری احتمالی) وارد مرحله اصلی استخراج با RNeasy Midi Kit (Qiagen Cat, no. 75144) گردید. پس از آن ۳ میکروگرم از RNA حاصله در ۳ ویال جداگانه(هر کدام ۱ میکروگرم) با استفاده از Viva 2-Steps RT-PCR Kit به cDNA تبدیل شد و تا زمان انجام آزمایش نهایی در دمای ۸۰- درجه سانتی‌گراد نگه‌داری گردید. کیفیت و کمیت هر دو محصول فوق در انتهای هر مرحله با استفاده از دستگاه(Bio-TeK, USA) Nanodrop Spectrophotometer کنترل شد.

قابل ذکر است که در بررسی میزان بیان ژنها با روشهایی مثل Real-time RT-PCR باید یک ژن به عنوان ژن House Keeping وجود داشته باشد تا بتوان نتایج را با آن سنجید و به این منظور 18s rRNA انتخاب شد(۱۳).

از آنجا که جهت بررسی ck19 mRNA به روش Real-time RT-PCR در مرحله نخست نیاز به طراحی پرایمر بود، پرایمرهای اختصاصی مارکر به کمک نرم‌افزار AlleleID 7 طراحی شد. به منظور افزایش ویژگی واکنش Real-time RT-PCR و جلوگیری از موارد مثبت کاذب ناشی از تکثیر توالی‌های نوکلئوتیدی DNA، مکان اتصال یکی از هر زوج پرایمر مربوط به هر ژن در یکی از نواحی Exon-exon junction طراحی گردید تا نهایتاً پرایمر مربوطه فقط به توالی‌هایی متصل شود که در cDNA حاصل از mRNA وجود دارند.

[Downloaded from payavard.tums.ac.ir on 2026-06-14]

جدول ۱: مشخصات پرایمرهای مورد استفاده در واکنش Real-time RT-PCR. شماره هر ژن، توالی، اندازه و میزان مصرف هر پرایمر به تفکیک مشخص شده است

خصوصیات	ck19	18s rRNA
NCBI accession number	NM_002276.4	X03205
Forward primer	TCCGAACCAAGTTTGAGAC	GTAACCCGTTGAACCC CATT
Primer length	۱۹	۲۰
Reverse primer	AATCCACCTCCACACTGA	CCATCCAATCGGTAGT AGCG
Primer length	۱۸	۲۰
Amplicon length	۲۲۲	۱۵۲
Optimized annealing temperature	۵۸/٤ ℃	۵۳/۵ ℃

پرایمرهای ژن house keeping نیز همان‌طور که در جدول ۱ آمده است، از توالی‌هایی که قبلاً مورد استفاده قرار گرفته بودند انتخاب و جهت ساخت سفارش داده شد.

جهت ادامه Real-time RT-PCR از کیت HotTaq EvaGreen qPCR Mix استفاده شد و مطابق دستورالعمل آن آزمایش نهایی صورت گرفت.

جدول ۲: درجه حرارت‌ها و زمان‌های واکنش Real-time RT-PCR

مراحل Real-time	درجه حرارت	زمان
Initial activation	۹۵℃	۱۵ Min
40 cycles of:		
Denaturation	۹۵℃	۱۵ S
Annealing	٦۰℃	٦۰ S
Extension	۷۲℃	۲۰ S

درجه حرات‌ها و زمان‌های واکنش مطابق دستورالعمل کیت تنظیم شد که در جدول ۲ آمده است.

تعیین سطح سرمی CEA توسط کیت Can Ag CEA EIA انجام شد و غلظت‌های کمتر از ۵ میکروگرم در لیتر به عنوان مورد منفی، و غلظت‌های بالاتر به عنوان مورد مثبت تلقی گردید. اساس کار این کیت برپایه ایمونواسی غیررقابتی فاز جامد **(Solid-Phase, Non-Competitive Immunoassay)** بود و از روش ساندویچی مستقیم **(Direct Sandwich)** استفاده گردید.

مقایسه‌ی میانگین‌های بین دو گروه با استفاده از آزمون آماری t-test، و مقایسه ی درصد مثبت‌شدن مارکرها در دو گروه با کمک آزمون مقایسه‌ی نسبت‌ها(Two-Sample Binomial) توسط نرم‌افزار SPSS11 انجام شد. اختلاف در سطح P=۰/۲۳ معنی‌دار تلقی گردید.

[Downloaded from payavard.tums.ac.ir on 2026-06-14]

یافته‌ها

جمعیت مورد مطالعه شامل دو گروه بیماران و افراد سالم بود که در هر گروه ۳۰ نفر قرار گرفتند. از گروه بیماران ۲۳(۷۶/۶۶٪) مرد، و تعداد ۷(۲۳/۳۳٪) زن، و از گروه شاهد ۲٤(۸۰٪) مرد، و ٦(۲۰٪) زن بودند. مقایسه این دو گروه با استفاده از آزمون t-test از نظر میانگین سنی تفاوت معنی‌داری را نشان نداد؛ لذا می‌توان استدلال کرد که فاکتور سن در گروه‌های مورد مطالعه اثر مخدوش‌کننده ندارد. ضمن اینکه اگر بتوان مشابه همین مقایسه را در زیرگروه‌های خانم‌ها و آقایان انجام داد، باز هم تفاوتی در میانگین سنی در این زیر گروه‌ها دیده نمی‌شود.

در نتایج حاصل از Real-time RT-PCR، مارکر CK19mRNA در گروه بیماران در ۷ نفر از ۳۰ نفر مثبت گردید که نشان‌دهنده‌ی حساسیت برابر ۲۳/۳٪ است؛ در صورتی که در افراد سالم مورد مثبتی مشاهده نشد. مقایسه آماری میزان مثبت‌شدن این مارکر در بیماران و افراد سالم که با استفاده از آزمون Two-Sample Binomial انجام شد، بیانگر تفاوت آماری معنی‌داری بین این دو گروه بود(P-value < ۰/۰۰۱).

سطح سرمی CEA با استفاده از روش الایزا اندازه‌گیری شد. میزان کمتر از ۵ میکروگرم در لیتر این پروتئین از دیدگاه بالینی طبیعی تلقی شد. سطح سرمی مارکر CEA در گروه بیماران در ۱۱ نفر از ۳۰ نفر مثبت گردید، در صورتی که در افراد سالم مورد مثبت مشاهده نشد. حساسیت این آزمون، برابر ۳٦/٦٪ است؛ بدین معنی که توانایی این تست در تشخیص بیماران از افراد سالم معادل ۳٦/٦٪ می‌باشد.

جدول ۳: مقایسه میانگین سطح سرمی CEA در گروه مبتلایان به سرطان ریه و افراد سالم با استفاده از آزمون t-test

گروه‌های مورد مطالعه	سطح CEA در خون (Mg/L)	
	میانگین	انحراف معیار
بیماران (n=۳۰)	۲۱/۸۱	۰/۸۰۳۳
افراد سالم(n=۳۰)	۳٤/۷	۰/۹۹

(µg/L= Micrograms per liter) , (SD=standard deviation) , P-value <۰/۰۰۱

میانگین سطح سرمی مارکر CEA همان‌گونه که در جدول ۳ نشان داده شده است در گروه بیماران از گروه شاهد بیشتر بود و این تفاوت از نظر آماری معنی‌دار شد(P-value <۰/۰۰۱).

بحث

سرطان ریه عمده‌ترین علت مرگ ناشی از سرطان مردان و زنان در ایالات متحده است. تعداد افرادی که سالیانه به علت سرطان ریه می‌میرند در ۲۵ سال گذشته افزایش یافته است. تعداد افرادی که به علت سرطان ریه می‌میرند، بیشتر از مجموع مرگ و میرهای ناشی از سرطان‌های پستان، پروستات و کولورکتال است(۱).

غربالگری، روشی برای شناسایی یک بیماری در مراحل اولیه‌ی آن است قبل از اینکه فرد به آن بیماری مبتلا شود. باید توجه داشت غربالگری در شناسایی

[Downloaded from payavard.tums.ac.ir on 2026-06-14]

بیمارانی که بیماری آن‌ها در مراحل اولیه قرار دارد، مفید است و این شناسایی می‌تواند تعداد افرادی را که به دلیل این بیماری می‌میرند، کاهش دهد. ثابت شده است که برخی از آزمون‌های غربالگری تاثیر مهمی در نتیجه‌ی بیماری و درمان آن دارند. در بین روش‌های غیرتهاجمی، بیومارکرهای توموری که در پاسخ به وجود یا پیشرفت سرطان از بدن یا بافت توموری تولید و به میزان بسیاری در خون، ادرار و بافت توموری نسبت به افراد سالم یافت می‌گردد، معیارهای مناسبی برای تشخیص زودرس بیماری هستند(۱۵و۱٤). افزایش میزان سطح این بیومارکرها، نشان‌دهنده‌ی وجود سرطان و کاهش میزان آنها در حین درمان نشانه‌ی مهارشدن رشد سرطان در بیمار است(۱٦). اگرچه امروزه این مارکرها به طور عمده در تشخیص سرطان‌های مختلف استفاده می‌شوند، امّا مارکر اختصاصی سرطان‌های بدخیم تاکنون شناسایی نشده است(۱۷). در بین انواع مختلف مارکرهای توموری، به نظر می‌رسد که بیومارکرهای mRNA مناسب‌تر از بقیه باشند، زیرا مقادیر بسیار کم از این مارکر را می‌توان با روش Real- time RT-PCR که روشی است با حساسیت و ویژگی بالا جستجو و ارزیابی کرد، و به همین دلیل بیومارکری از همین گروه به نام ck19mRNA انتخاب شد.

مطالعات قبلی نشان می‌دهد که با افزایش تکرار نمونه‌گیری، افزایش معنی داری در حساسیت مارکرهای mRNA دیده می‌شود(۷و٦). به همین لحاظ، این احتمال وجود دارد که دلیل پایین‌بودن حساسیت در آزمایش‌های یک نوبته در مقایسه با چند نوبته این است که احتمال یافتن بیومارکرها در یک نوبته کمتر است، زیرا تعداد سلولهای توموری در نمونه‌های خون محیطی بیماران بسیار کم می‌باشد و به همین دلیل میزان بیان مارکرها در این نمونه‌ها بسیار پایین است. لذا از دیدگاه آماری با تکرار آزمایش، احتمال پیداکردن این بیومارکر در خون محیطی افزایش می‌یابد(۱۸). بنابراین، اگر از بیماران در چند نوبت نمونه‌گیری انجام شود، احتمال یافتن این بیومارکرها در خون محیطی افزایش خواهد یافت.

سیتوکراتین ۱۹پروتئینی است که به میزان بسیار کم در سلول‌های اپی تلیال شاخه برونش و به فراوانی در سلول‌های کارسینوما تولید می‌گردد(۹و۸). مطالعات پیشین پیشنهاد می‌کنند که ck19 ممکن است به طور با ارزشی در پیش‌بینی NSCLC به کار رود. شایان ذکر است که CK19 یک ظرفیت مناسب برای پایش درمان NSCLC در پیشرفت بیماری در نظر گرفته می‌شود؛ همان‌طور که برای تعیین عود(بازگشت) بیماری بعد از درمان اولیه مخصوصاً در سرطان سلول‌های سنگفرشی ریه به کار می‌رود. گزارش‌های اخیر پیشنهاد می‌کنند که در بیماران با فازهای پیشرفته NSCLC که شیمی درمانی را تحمل می‌کنند، سیر وقایع در مورد CK19 در طول شروع فاز درمان پاسخ به درمان‌های بعدی را پیشگویی می‌کند. مقدار CK19 ممکن است که به طور معنی‌داری توسط نارسایی کلیوی تحت نفوذ باشد و بدین ترتیب نتایج بالاتری ممکن است مشاهده شود(۱۹). Schneider & Schulze با مطالعه بر روی ۱٤٤ بیمار مبتلا به سرطان ریه بیشترین و کمترین میزان مارکر CK19 را به ترتیب در سرطان ریه از نوع یاخته‌های سنگفرشی و یاخته‌های کوچک گزارش کردند(۲۰). در مطالعات متعددی از جمله Oyama و همکاران و Pastor و همکاران مقادیر بالای آنتی‌ژن کارسینومای جنینی را در سطح سرمی بیماران مبتلا به سرطان یاخته‌های غیرکوچک نسبت به نوع کوچک گزارش نموده‌اند و مقادیر بالای آن به خصوص در سرطان نوع NSCLC بیشتر از انواع دیگر

[Downloaded from payavard.tums.ac.ir on 2026-06-14]

دیده شده است(۲۲و۲۱). البته با توجه به این که بیشتر مطالعات مشابه بر روی مراحل پایانی بیماری صورت گرفته است، حساسیت گزارش شده این مارکر از آنچه در مطالعه ما بدست آمد(۲۳/۳٪)، اندکی بیشتر است. در مطالعات Bates و همکاران بر روی ۱۸٤ بیمار مبتلا به سرطان ریه همبستگی بین دو مارکر CK19, CEA مثبت معنی‌دار ارزیابی شد(۲۳). در مطالعه اخیر نیز همبستگی معنی‌داری بین این دو مارکر یافت شد. در حالی که در مطالعات Paone و همکاران بر روی ۹٦ بیمار سرطان ریه این همبستگی معنی‌دار نبود(۲٤).

مارکر CK19 حدوداً ۵۰-۷۰٪ در بیماران مبتلا به سرطان سلول‌های سنگفرشی ریه، ۳۰-۵۰٪ در بیماری ادنوکارسینوما، و ۳۱٪ در SCLC مثبت است(۲۵). افزایش درصد مثبت‌بودن با شدت بیماری مطابقت دارد(۲٦). حساسیت روش مورد استفاده در این پژوهش در مقایسه با مطالعه فوق قابل‌قبول به نظر می‌رسد(۲٦و۲۳و۲۱). فقدان بیان این مارکر در افراد سالم که در مطالعات دیگر نیز دیده شده است دال بر اختصاصی‌بودن مناسب این مارکر می‌باشد.

نتیجه‌گیری

در مجموع می‌توان نتیجه‌ی این پژوهش که در زمینه‌ی تومور مارکرهای سرطان ریه است را به عنوان یک آزمون تشخیصی -غربالگری برای کشف زودرس بیماری در مراحل اولیه دانست. برای اثبات بیشتر نتایج پژوهش حاضر، توصیه می‌شود مطالعات گسترده‌تر با حجم نمونه‌های بیشتری صورت گیرد. ضمناً می‌توان با بررسی بیان بیومارکرهای دیگری در سرطان ریه برای کمک به این موضوع و بالابردن دقت آزمایش‌های غربالگری این سرطان استفاده کرد.

تشکر و قدردانی

این پژوهش بخشی از یک پایان نامه‌ی دکتری تخصصی رشته پزشکی مولکولی است که طی سال‌های ۹۲-۹۱ در بیمارستان مسیح دانشوری دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی و با هزینه معاونت تحقیقات و فن‌آوری دانشگاه علوم پزشکی همدان انجام شده است. ضمناً از زحمات استادان و همکاران گروه پزشکی مولکولی دانشگاه علوم پزشکی همدان و بیمارستان مسیح دانشوری دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی صمیمانه تشکر می‌گردد.

منابع

1. Aberle DR, Adams AM, Berg CD, Black WC, Clapp JD, Fagerstrom RM, et al. Reduced lung-cancer mortality with low-dose computed tomographic screening. The New England Journal of Medicine 2011; 365(5): 395-409.

2. Kang S, Sung H, Mo Ahn J, Yong Park J, Youn Lee S & Sik Park Cand. The Haptoglobin chain as a supportive biomarker for human lung cancers. Molecular BioSystems 2011; 7(4): 1167-75.

3. Kwak EL, Bang YJ, Camidge DR, Shaw AT, Solomon B, Maki RG, et al. Anaplastic lymphoma kinase inhibition in non small-cell lung cancer. The New England Journal of Medicine 2010; 363(18): 1693-703.

4. Ahlquist DA. Molecular detection of colorectal neoplasia. Gastroenterology 2010; 138(6): 2127-39.

5. Gerhard M, Juhl H, Kalthoff H, Schreiber HW, Wagener C & Neumaier M. Specific detection of carcinoembryonic antigen-expressing tumor cells in bone marrow aspirates by polymerase chain reaction. Journal of Clinical Oncology 1994; 12(4): 725-9.

[Downloaded from payavard.tums.ac.ir on 2026-06-14]

6. Wharton RQ, Jonas SK, Glover C, Khan ZA, Klokouzas A, Quinn H, et al. Increased detection of circulating tumor cells in the blood of colorectal carcinoma patients using two reverse transcription-PCR assays and multiple blood samples. Clinical Cancer Research 1999; 12(5): 4158-63.

7. Zhang XW, Yang HY, Fan P, Yang L & Chen GY. Detection of micrometastasis in peripheral blood by multi-sampling in patients with colorectal cancer. World Journal of Gastroenterology 2005; 11(3): 436-8.
8. Buccheri G & Ferrigno D. Cytokeratin-derived markers of lung cancer. Expert Review Molecular Diagnostics 2001; 1(3): 315-22.

9. Swellam M, Ragab HM, Abdalla NA & El-Asmar AB. Soluble cytokeratin-19 and E-selectin biomarkers: Their relevance for lung cancer detection when tested independently or in combinations. Cancer Biomarks 2008; 4(1): 43-54.

10. Pujol JL, Greiner J, Daures JP, Daver A, Pujol H & Michel FB. Serum fragment of cytokeratin subunit 19 measured by CYFRA 21-1 immunoradiometric assay as a marker of lung cancer. Cancer Research 1993; 53(1): 61-6.

11. Chevinsky AH. CEA in tumors of other than colorectal origin. Seminars in Surgical Oncology 1991; 7(3): 162-6.

12. Maxwell P. Carcinoembryonic antigen: Cell adhesion molecule and useful diagnostic marker. British Journal of Biomedical Science 1999; 56(3): 209-14.

13. Radonić A, Thulke S, Mackay IM, Landt O, Siegert W & Nitsche A. Guideline to reference gene selection for quantitative real-time PCR. Biochemical and Biophysical Research Communications 2004; 313(4): 856-62.

14. Thomas CM & Sweep CG. Serum tumor markers: Past, state of the art, and future. The International Journal of Biological Markers 2001; 16(2): 73-86.

15. Duffy MJ. Clinical uses of tumor markers: A critical review. Critical Reviews in Clinical Laboratory Sciences 2001; 38(3): 225-62.

16. Schneider J. Tumor markers in detection of lung cancer. Advances in Clinical Chemistry 2006; 42(1): 1-41.

17. Buccheri G & Ferrigno D. Lung tumor markers of cytokeratin origin: An overview. Lung Cancer 2001; 34(2): 65-9.

18. Yadegarazari R, Hassanzadeh T, Majlesi A, Keshvari A, Monsef Esfahani A, Tootoonchi A, et al. Improved real-time rt-PCR assays of two colorectal cancer peripheral blood mRNA biomarkers: A pilot study. Iranian Biomedical Journal 2013; 17(1): 15-21.

19. Dohmoto K, Hojo S, Fujita J, Ueda Y, Bandoh S, Yamaji Y, et al. Mechanisms of the release of CYFRA1-21 in human lung cancer cell lines. Lung Cancer 2000; 30(1): 55-63.

20. Schneider J & Schulze G. Comparison of tumor M2-pyruvate kinase (tumor M2-PK), carcinoembryonic antigen (CEA), carbohydrate antigens CA 19-9 and CA 72-4 in the diagnosis of gastrointestinal cancer. Anticancer Research 2003; 23(6): 5089-93.

21. Oyama T, Kawamoto T, Matsuno K, Osaki T, Matsumoto A, Isse T, et al. A case-case study comparing the usefulness of serum trace elements (Cu, Zn and Se) and tumor markers (CEA, SCC and SLX) in non-small cell lung cancer patients. Anticancer Research 2003; 23(1): 605-12.

[Downloaded from payavard.tums.ac.ir on 2026-06-14]

22. Pastor A, Menéndez R, Cremades MJ, Pastor V, Llopis R & Aznar J. Diagnostic value of SCC, CEA and CYFRA 21.1 in lung cancer: A Bayesian analysis. European Respiratory Journal 1997; 10(3): 603-9.

23. Bates J, Rutherford R, Divilly M, Finn J, Grimes H, O'Muircheartaigh I, et al. Clinical value of CYFRA 21.1, carcinoembryonic antigen, neurone-specific enolase, tissue polypeptide specific antigen and tissue polypeptide antigen in the diagnosis of lung cancer. European Respiratory Journal 1997; 10(11): 2535-8.

24. Paone G, De Angelis G, Munno R, Pallotta G, Bigioni D, Saltini C, et al. Discriminant analysis on small cell lung cancer and non-small cell lung cancer by means of NSE and CYFRA-21.1. European Respiratory Journal 1995; 8(7): 36-40.

25. Benedíková A, Srovnal J, Szkorupa M, Skalisky P, Chudakek J, Bohanes T, et al. Biomarkers in the detection of minimal systemic dissemination in lungcancer patients. Rozhl Chir 2012; 91(4): 209-15.

26. Yu H, Huang X, Zhu Z, Hu Y, Ou W, Zhang L, et al. Significance of combined detection of LunX mRNA and tumor markers in diagnosis of lung carcinoma. Chinese Journal of Cancer Research 2014; 26(1): 89-94.

[Downloaded from payavard.tums.ac.ir on 2026-06-14]

Expression Of CK19 Gene In Patients With Lung Cancer And Its Comparison With Carcinoembryonic Antigen In Peripheral Blood

Mohamadnia Abdolreza[1] (Ph.D) - Karimi Shirin[2] (M.D.) – Yadegar Azari Reza[3] (Ph.D) - Naji Seyed Alireza[4] (Ph.D) - Khosravi Adnan[5] (M.D.) Bahrami Naghmeh[6] (Ph.D) - Saidijam Massoud[7] (Ph.D)

1 Assistant Professor, Virology Research Center, National Research Institute of Tuberculosis and Lung Diseases (NRITLD), Biotechnology & Molecular Medicine Department, School of Advanced Technologies, Shahid Beheshti University of Medical Sciences, Tehran, Iran
2 Associate Professor, Mycobacteriology Research Center, National Research Institute of Tuberculosis and Lung Diseases (NRITLD), Dr Masih Daneshvari Hospital, Shahid Beheshti University of Medical Sciences, Tehran, Iran
3 Assistant Professor, Genetics and Molecular Medicine Department, School of Medicine, Molecular Medicine Research Center, Hamadan University of Medical Sciences, Hamadan, Iran
4 Associate Professor ,Virology Research Center, National Research Institute of Tuberculosis and Lung Diseases (NRITLD), Dr Masih Daneshvari Hospital, Shahid Beheshti University of Medical Sciences, Tehran, Iran
5 Assistant Professor, Tobacco Prevention and Control Research Center, National Research Institute of Tuberculosis and Lung Diseases (NRITLD), Dr Masih Daneshvari Hospital, Shahid Beheshti University of Medical Sciences, Tehran, Iran
6 Assistant Professor, Cranioniomaxillofacial Research Center, Oral and Maxillofacial Surgery Department, School of Dentistry, Tehran University of Medical Sciences, Tehran, Iran
7 Professor, Molecular Medicine and Genetics Department, School of Medicine, Hamadan University of Medical Sciences, Hamadan, Iran

Abstract

Received : Sep 2015
Accepted : Dec 2015

Background and Aim: Lung cancer is the most common cancer among men around the world. The aim of this study was to determine the expression levels of CK19 mRNA marker in the affected patients' peripheral blood.

Materials and Methods: Thirty patients with lung cancer (NSCLC type) were compared with 30 healthy controls. After taking peripheral blood samples and extracting total RNA, cDNA was synthesized and examined by Real-time RT-PCR technique. Then, the CEA antigen was measured by ELISA.

Results: The CK19mRNA was positive in 7 out of 30 lung cancer patients. Hence, its sensitivity was determined to be 23.3 %. The serum level of CEA antigen was positive in 11 out of 30 lung cancer patients. The mean serum level of CEA antigen markers was higher in patients than in controls; the difference was statistically significant ($P< 0.001$). The sensitivity of this test was determined to be 36.6 %.

Conclusion: This study showed that the sensitivity of CK19 mRNA in peripheral blood was low, but it had a high specificity for the diagnosis of primary lung cancer. Also, it was found that CEA antigen could be the specific marker for the early detection of lung cancer in patients' peripheral blood.

Key words: Lung Cancer, Biomarker, CK19 mRNA, Carcinoembryonic Antigen, Peripheral Blood

* **Corresponding Author:**
Saidijam M;
E -mail:
sjam110@yahoo.com

[Downloaded from payavard.tums.ac.ir on 2026-06-14]