

ارتباط کاهش بیان ژن *TINCR* با اندازه تومور در بیماران مبتلا به سرطان پستان و متاستاز آن به غدد لنفاوی

زینب شقاقی تر کرداری Ph.D.، محمد خلیج کندی Ph.D.*، محمدعلی حسین پور فیضی Ph.D.

دانشگاه تبریز، دانشکده علوم طبیعی، گروه علوم جانوری، تبریز، ایران

* پست الکترونیک نویسنده مسئول: khalaj@tabrizu.ac.ir

تاریخ پذیرش: ۱۴۰۰/۶/۲۸

تاریخ دریافت: ۱۴۰۰/۱/۲۲

چکیده

هدف: این مطالعه با هدف ارزیابی سطح بیان *TINCR* در بافت‌های توموری و غیرتوموری مجاور ۵۰ زن مبتلا به سرطان داکتال تهاجمی پستان انجام شد. ارتباط بیان *TINCR* و خصوصیات بالینی بیماران نیز مورد مطالعه قرار گرفته است.

مواد و روش‌ها: RNA تام از بافت توموری و غیرتوموری مجاور بیماران مبتلا به سرطان پستان با استفاده از محلول RNX-Plus جدا شد. سپس، از معرف Prime ScriptTM RT برای تبدیل RNA تام به cDNA استفاده شد. سطح بیان *TINCR* توسط qRT-PCR کمی شده و نتایج با آزمون تی زوجی تجزیه و تحلیل شد. علاوه بر این، برای ارزیابی قدرت بیومارکری *TINCR* از تحلیل منحنی ROC در بافت‌های توموری سرطان پستان استفاده شد.

نتایج: کاهش سطح *TINCR* در بافت توموری بیماران مبتلا به سرطان پستان در مقایسه با بافت غیرتوموری مجاور به دست آمد ($p < 0.001$). میزان بیان *TINCR* با اندازه تومور و متاستاز غدد لنفاوی در بافت توموری سرطان پستان ارتباط منفی داشت.

نتیجه‌گیری: کاهش سطح بیان *TINCR* در بافت توموری بیماران مبتلا به سرطان پستان نشان می‌دهد که سطح بیان آن می‌تواند بافت توموری و غیرتوموری مجاور را از یکدیگر متمایز سازد. علاوه بر این، *TINCR* دارای سطح بیان پایین‌تری در بیماران مبتلا به سرطان پستان با تومورهای بزرگ، متاستاز غدد لنفاوی و زیرگروه لومینال A و B دارد.

واژگان کلیدی: سرطان پستان، کاهش بیان، *TINCR*، lncRNA

مقدمه

سرطان یکی از علل اصلی مرگ و میر انسان‌ها در سرتاسر جهان می‌باشد. یکی از شایع‌ترین نوع بدخیمی در بین زنان، سرطان پستان می‌باشد که سومین سرطان شایع در جهان پس از سرطان ریه و معده به حساب می‌آید. مطالعه شیوع و مرگ و میر ناشی از سرطان در کشورها، هزینه‌های فزاینده‌ای برای سیستم‌های بهداشتی، به‌ویژه در کشورهای با درآمد کم و متوسط ایجاد می‌کند (۱). به این ترتیب با پیش‌رشدن جمعیت و اتخاذ سبک زندگی غربی، سرطان پستان به یک چالش مهم اقتصادی در این کشورها تبدیل خواهد شد (۲). پنج الی ده درصد از سرطان‌های پستان به دلیل جهش‌های مستعدکننده در سلول‌های زایشی می‌باشد که بیش از ۵۰ درصد این موارد در ژن‌های *BRCA1* و *BRCA2* اتفاق می‌افتد. میزان بروز استاندارد شده‌ی سنی (*Age Standardized Rate* یا *ASR*) در ایران برای جمعیت مردان ۰/۸۲ در هر صد هزار و برای جمعیت زنان تعداد ۲۴ در هر صد هزار به دست آمده است (۳). سالانه افراد زیادی در اثر ابتلا به سرطان پستان در کشورهای مختلف جهان از جمله ایران جان خود را از دست می‌دهند که در صورت تشخیص به‌موقع این بیماری، کنترل و درمان آن سریع‌تر بوده و موفقیت آن نیز بیش‌تر خواهد بود. مطالعات مختلفی در جهت شناسایی عوامل انکوژنی و فاکتورهای سرکوب‌کننده توموری در سرطان‌ها به‌ویژه سرطان پستان صورت گرفته است که می‌تواند در جهت شناسایی روش‌های درمانی بهتر کمک‌کننده باشد (۴، ۵). از جمله این عوامل می‌توان به *RNA*های طویل غیرکدکننده (*long non coding RNAs* یا *lncRNAs*) اشاره کرد. *lncRNA*ها به‌عنوان گروهی از رونوشت‌ها با طول بیش از ۲۰۰ نوکلئوتید می‌باشند که به‌عنوان تنظیم‌کننده‌های مهم بیان ژن و روند سرطان‌زایی در نظر گرفته می‌شوند (۶). این مولکول‌ها در فرآیندهای سلولی مختلف مانند تنظیم اپی‌ژنتیکی بیان ژن، تعدیل بیان در سطح رونویسی و پس از رونویسی شرکت می‌کنند (۷). به این ترتیب *lncRNA*ها می‌توانند بر تکثیر سلولی، آپوپتوز، مهاجرت و ثبات ژنوم تاثیرگذار باشند (۸). این مولکول‌ها در فرآیند تومورزایی معمولاً نقش انکوژن یا سرکوب‌کننده تومور را به‌عهده دارند. اخیراً برخی از *lncRNA*ها شناسایی شده‌اند که نقش آن‌ها در روند سرطان‌زایی به‌بافت محل بیان آن‌ها بستگی دارد (۹). از جمله‌ی این *lncRNA*ها می‌توان به *RNA* غیرکدکننده القاکننده تمایز انتهایی (*TINCR*) اشاره کرد. ژن *TINCR* دارای طول ۳۷۰۰ نوکلئوتید می‌باشد که بیان آن در مرحله پایانی تمایز اپی‌درم انسان اتفاق می‌افتد (۱۰). بیان این *ANRcn1* منجر به تنظیم بیان ژن‌های مهم دخالت‌کننده در فرآیند تمایز می‌شد. مطالعات مختلفی نشان داده‌اند که *RCNIT* در پوست، جفت و مری بیان اختصاصی دارد (۱۱). براساس مطالعات اخیر، *RCNIT* در بافت توموری سرطان‌های مختلف به‌طور متفاوت بیان می‌شود (۲۱) که این موضوع اهمیت مطالعه این مولکول در سرطان و نقش آن به‌عنوان بیومارکر جدید در تشخیص و درمان این بیماری را نشان می‌دهد. به این ترتیب هدف مطالعه‌ی حاضر، بررسی و مقایسه سطح بیان *RCNIT* در بافت توموری و بافت غیرتوموری مجاور در زنان مبتلا به سرطان پستان، بررسی ارتباط بیان این ژن با ویژگی‌های کلینیکی بیماری و نیز تعیین میزان قدرت بیومارکری *RCNIT* در بافت توموری مبتلایان می‌باشد.

مواد و روش‌ها

نمونه‌گیری: در این مطالعه از ۵۰ نفر زن مبتلا به کارسینوم داکتال غیرتهاجمی پستان که در سال‌های ۱۳۹۴ تا ۱۳۹۵ به بیمارستان نورنجات تبریز مراجعه کرده‌اند، نمونه‌های بافت توموری و بافت غیرتوموری مجاور (با فاصله ۱۰-۶ سانتی‌متری از بافت تومور) به‌روش نمونه‌گیری تصادفی به‌دست آمد. تعداد نمونه‌ها (*Sample size*) با استفاده از نرم‌افزار *G Power* مورد محاسبه قرار گرفت و ۴۴ جفت نمونه (بافت توموری و غیرتوموری مجاور) با ضریب اطمینان ۹۵ درصد، قدرت ۹۰ درصد و میزان اثر (*effect size*) ۰/۵ برآورد شد. در این مطالعه با در نظر گرفتن ۱۲ درصد ریزش احتمالی نمونه‌ها، از ۵۰ فرد بیمار

نمونه‌گیری انجام شد. نمونه‌های بافتی در طی جراحی به‌داخل میکروتیوب‌های ۱/۵ میلی‌لیتری استریل انتقال داده شده و در فریزر ۸۰- درجه سانتی‌گراد نگهداری شدند. در مطالعه حاضر از تمامی بیماران شرکت کننده در مطالعه رضایت‌نامه آگاهانه اخذ شده است. این مطالعه براساس مجوز شماره IR.TABRIZU.REC.1398.016 مورد تایید کمیته اخلاق دانشگاه تبریز قرار گرفته است.

استخراج RNA تام و انجام رونوشت‌برداری معکوس: از تمامی جفت نمونه‌های بافتی بیماران، استخراج RNA با استفاده از کیت RNX-Plus (ایران) انجام شد و سپس تا زمان انجام مراحل بعدی در دمای ۸۰- درجه سانتی‌گراد نگهداری شد. جهت ارزیابی کمی و کیفی RNA استخراج شده به ترتیب از اسپکتروفتومتر (Eppendorf، آلمان) و الکتروفورز ژل آگارز استفاده شد. رونوشت‌برداری معکوس نیز با استفاده از کیت Prime ScriptTM (چین) برای سنتز cDNA از RNA استخراج شده انجام شد.

واکنش qPCR: پرایمرهای *TINCR* و *GAPDH* به‌عنوان ژن کنترل داخلی با استفاده از نرم‌افزار Gene Runner و سایت NCBI طراحی شدند که توالی این پرایمرها در جدول ۱ ذکر شده است. واکنش qPCR به‌روش SYBR Green با استفاده از مسترمیکس AMPLIQON (دانمارک) با دستگاه Step One PlusTM (آمریکا) بر روی cDNA به‌دست آمده انجام شد.

جدول ۱: مشخصات پرایمرهای استفاده شده در qPCR

طول محصول (bp)	توالی پرایمرها (5'-3')		نام ژن
	Reverse	Forward	
۱۱۶	CAAACAAGAAGGTGGGACAT	CACACTGACTCTCTCTGCTC	TINCR
۲۰۴	GTCCACCACCCTGTTGCTGTAG	AAGAAGGTGGTGAAGCAGGCGT	GAPDH

آنالیز آماری

نتایج به‌دست آمده از qPCR به‌کمک نرم‌افزارهای SPSS، Graph Pad Prism و MedCalc مورد آنالیز قرار گرفت و هم‌چنین برای محاسبه حجم نمونه از نرم‌افزار G Power استفاده شد. علاوه‌براین برای مقایسه میانگین بیان ژن در بافت توموری و غیرتوموری مجاور از آزمون تی زوجی استفاده شد. برای مقایسه سطح بیان *TINCR* در بافت توموری نسبت به بافت غیرتوموری مجاور از روش $2^{-\Delta\Delta C}$ (محاسبه Fold change) (۱۳) استفاده شد. جهت بررسی قدرت بیومارکری *TINCR* از آنالیز منحنی ROC در بافت توموری بیماران استفاده شد. هر نمونه به‌صورت تکرار دوتایی برای هر جفت پرایمر تهیه و مورد آنالیز قرار گرفت. در این داده‌ها *P-value* کم‌تر از ۰/۰۵ به‌صورت معنی‌دار تعریف شده است.

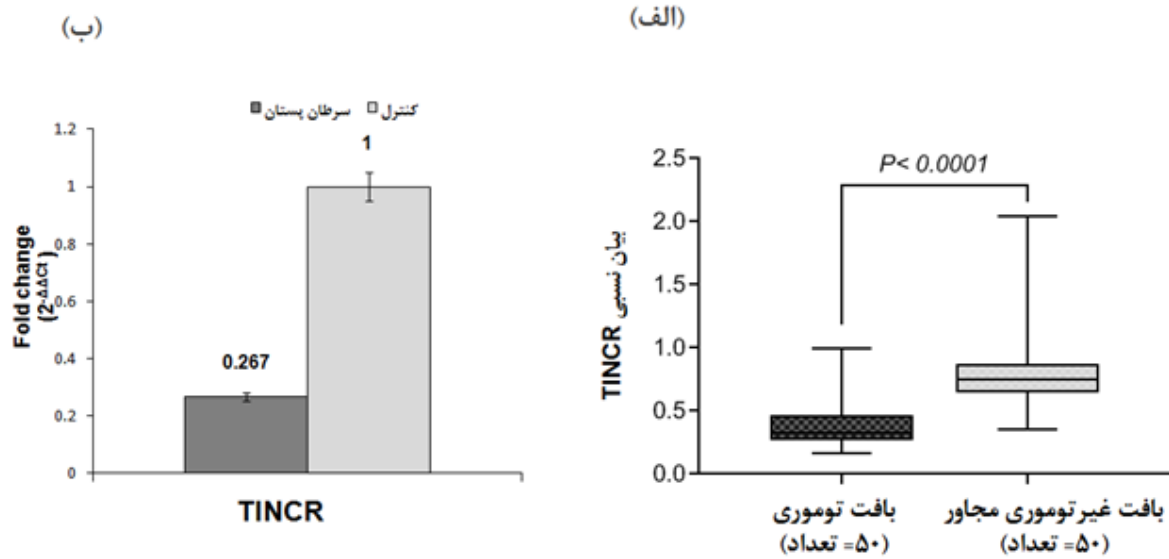
نتایج

این مطالعه بر روی ۵۰ زن مبتلا به کارسینوم داکتال غیرتهاجمی پستان انجام شد که سن تشخیص بیماری در آن‌ها بین ۲۶ و ۷۸ سال بود. بررسی سطح بیان مربوط به *TINCR* در نمونه‌های بافت توموری و مجاور تومور بیماران نشان داد که سطح بیان این ژن در بافت توموری نسبت به بافت غیرتوموری مجاور آن‌ها به‌طور معنی‌داری کاهش یافته است ($p < 0/001$). همان‌طور که در شکل ۱ نشان داده شده است نسبت کاهش سطح بیان *TINCR* در بافت توموری ۵ برابر بافت غیرتوموری

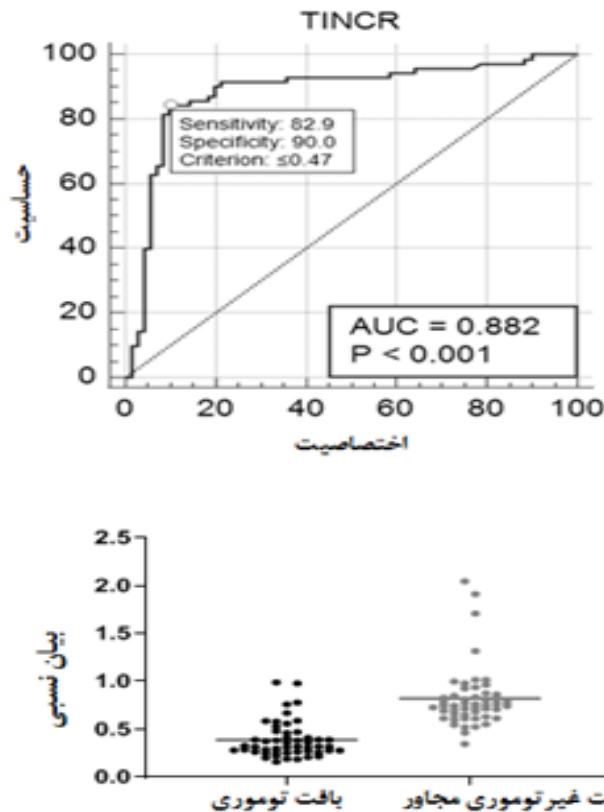
مجاور بوده است. ارتباط بیان *TINCR* با ویژگی‌های کلینیکیوپاتولوژیکی بیماران در جدول ۲ ذکر شده است. برطبق این داده‌ها، سطح بیان *TINCR* با اندازه‌ی تومور ($p=0/005$) و وجود متاستاز در غدد لنفاوی ($p=0/003$) ارتباط معنی‌داری نشان داد. براساس نتایج حاصل از جدول ۲، ارتباط معنی‌داری بین سایر ویژگی‌های بالینی بیماران و سطح بیان این ژن مشاهده نشد. مقایسه علاوه‌براین آنالیز منحنی ROC به‌منظور بررسی قدرت بیومارکری *TINCR* در بافت توموری بیماران انجام شد (شکل ۲) که سطح زیرمنحنی (۱۴) آن ۰/۸۸۲، حساسیت ۸۲/۹ درصد و اختصاصیت ۹۰ درصد به‌دست آمد ($p<0/001$).

جدول ۲: ارتباط بیان ژن *TINCR* با خصوصیات بالینی بیماران مبتلا به سرطان پستان

<i>Pvalue</i>	<i>TINCR</i>	تعداد	ویژگی‌های پاتولوژیکی
			اندازه تومور (سانتی متر)
	0.335	10	<2
0.005*	0.055	55	2-5
	0.013	5	>5
			درجه هیستولوژیکی
	0.144	13	به خوبی تمایز یافته
0.188	0.234	49	تمایز یافته متوسط
	0.076	8	تمایز یافته ضعیف
			ساب تایپ مولکولی
	0.226	42	لومینال A
	0.272	18	لومینال B
0.768	0.12	3	HER2
	0.18	1	سرطان پستان سه گانه منفی
	0.254	6	نامشخص
			مرحله شناسایی و استیج بیماری
	0.186	28	۱
	0.183	13	۲
0.359	0.135	14	۳
	0.299	15	۴
	0.176	1	نامشخص
			درگیری غدد لنفاوی
	0.208	40	مثبت
0.321	0.189	30	منفی
			وجود متاستاز در غدد لنفاوی
	0.025	15	مثبت
0.003*	0.385	55	منفی
			تهاجم عروق لنفی
	0.222	51	مثبت
0.15	0.203	19	منفی
			تهاجم اطراف عصبی
	0.207	11	مثبت
0.583	0.198	59	منفی



شکل ۱: سطح بیان *TINCR* در زنان مبتلا به سرطان پستان. (الف) سطح بیان *TINCR* در بافت توموری بیماران مبتلا به سرطان پستان در مقایسه با بافت غیرتوموری مجاور، (ب) نمودار Fold change که سطح بیان *TINCR* در بافت توموری بیماران مبتلا به سرطان پستان نسبت به حالت نرمال را نشان می‌دهد (هر نمونه به صورت تکرار دوتایی برای هر جفت پرایمر بررسی شده است).



شکل ۲: آنالیز منحنی ROC. ROC منحنی به همراه نمودار بیان *TINCR* در نمونه‌های بافتی بیماران در شکل نشان داده شده است که قدرت *TINCR* در تمیز نمونه‌های بافتی توموری از نمونه‌های غیرتوموری مجاور در بیماران مبتلا به سرطان پستان را بیان می‌کند، (AUC؛ سطح زیر منحنی).

بحث

مطالعات انجام شده در سال‌های اخیر نشان داده‌اند که *TINCR* یک مولکول تنظیم‌کننده مهم برای تمایز اپی‌تلیال به حساب می‌آید. این مولکول با تشکیل کمپلکس *TINCR-STAU1* ژن‌های دخیل در فرآیند تمایز مانند ژن *KRT80* را تنظیم می‌کند (۱۰). شواهد به‌دست آمده نشان می‌دهد که *TINCR* در پیشرفت بدخیمی، رشد تومور، متاستاز و مقاومت در برابر شیمی درمانی و رادیو درمانی دخیل است (۱۵، ۱۶). مطالعات متعددی در جهت ارزیابی بیان این ژن در رده‌های سلولی سرطانی نیز انجام شده است (۱۷). در این مطالعات هم‌چنین اثرات خاموش‌سازی و یا بیان بیش‌از‌حد این *lncRNA* در تکثیر سلولی، آپوپتوزیس و خواص تهاجمی این سلول‌ها مورد ارزیابی قرار گرفته است. علاوه‌براین، مطالعات انجام شده در زمینه مکانیسم عمل *TINCR* در تومورزایی نشان می‌دهند که تغییر بیان این ژن بسته به نوع سرطان با دخالت در مسیرهای سیگنالی متفاوتی می‌تواند در فرآیند تومورزایی نقش داشته باشد. به‌عنوان مثال، *TINCR* در سرطان معده از طریق میان‌کنش با پروتئین *STAU1* و اثر بر میزان پایداری و بیان رونوشت ژن *CDKN2B* منجر به افزایش تکثیر سلول‌های سرطانی می‌شود (۱۸). افزایش سطح بیان *TINCR* در برخی بدخیمی‌ها مانند سرطان معده (۱۷)، کارسینوم کبدی (۱۹)، (۲۰) و کارسینوم سلول‌های سنگ‌فرشی مری (۲۱) مشاهده شده است. مطالعات انجام شده در برخی دیگر از سرطان‌ها نتایج متناقضی را نشان داده‌اند. به‌عنوان مثال در سرطان روده بزرگ (۱۶، ۲۲)، سرطان ریه (۲۳، ۲۴) و سرطان پستان (۱۲، ۱۵، ۲۵) در برخی مطالعات کاهش و در برخی دیگر افزایش بیان این *lncRNA* در نمونه‌های توموری یا رده‌های سلولی سرطانی مشاهده شده است. برخلاف این مطالعات، چندین گزارش دیگر نشان داده‌اند که کاهش سطح بیان *TINCR* می‌تواند نقش مهمی در متاستاز و پیشرفت سرطان پروستات (۲۶)، کارسینوم سلول‌های سنگ‌فرشی دهان (۲۷) و کارسینوم سلول‌های سنگ‌فرشی پوست (۲۸) ایجاد کند. مطابق با این گزارش‌ها، در مطالعه حاضر، کاهش ۵ برابری سطح بیان *TINCR* در بافت توموری سرطان پستان نسبت به بافت غیرتوموری مجاور به‌دست آمد. برخی از یافته‌های اخیر اثبات کرده‌اند که *TINCR* بیان اختصاصی در زیرگروه‌های مولکولی سرطان پستان نشان می‌دهد و به‌طور اختصاصی در زیرگروه *HER-2* مثبت دچار افزایش بیان می‌شود (۲۵). در مطالعه حاضر، ۹۰ درصد از بیماران مبتلای شرکت‌کننده در زیرگروه‌های لومینال *A* و *B* قرار داشتند. درحالی‌که ۶ درصد از افراد بیمار *HER-2* مثبت و ۴ درصد به‌حالت سه‌گانه منفی (*Triple-Negative*) بودند که بیان اختصاصی *TINCR* در زیرگروه‌های مولکولی *HER-2* مثبت در سرطان پستان را تایید می‌کند. هم‌چنین، در بیماران که تومورهای بزرگ و درگیری متاستاز غدد لنفاوی داشتند نیز سطح پایینی از بیان *TINCR* مشاهده شده است که نشان‌دهنده نقش محافظتی *TINCR* در پیشرفت سرطان پستان می‌باشد. علاوه‌براین، تجزیه و تحلیل منحنی *ROC* در بافت توموری بیماران نیز نشان داد که کاهش سطح بیان *TINCR* می‌تواند بافت توموری را از بافت‌های غیرتوموری سرطان پستان تشخیص دهد.

نتیجه‌گیری

سطح بیان *TINCR* در نمونه‌های بافتی توموری بیماران مبتلا به سرطان پستان نسبت به بافت غیرتوموری مجاور کاهش معنی‌داری نشان داد. این کاهش بیان ارتباط مستقیم با اندازه تومور و نیز متاستاز غدد لنفاوی در بیماران مبتلا به سرطان پستان داشت. کاهش بیان *TINCR* هم‌چنین می‌تواند به‌عنوان یک بیومارکر تومور در تشخیص بافت توموری سرطان پستان از بافت غیرتوموری مجاور به‌حساب آید. علاوه‌براین، نقش محافظتی *TINCR* در بیماران مبتلا به سرطان پستان با زیرگروه‌های لومینال *A* و *B* می‌تواند هدف مناسبی در طراحی روش‌های درمانی ویژه برای این گروه از بیماران موثر واقع شد.

تشکر و قدردانی

از تمامی بیماران شرکت‌کننده در این مطالعه کمال تشکر و قدردانی را داریم.

منابع

1. Sung H, Ferlay J, Siegel RL, Laversanne M .et al. Global Cancer Statistics 2020: GLOBOCAN Estimates of Incidence and Mortality Worldwide for 36 Cancers in 185 Countries. CA: A Cancer Journal for Clinicians. 2021;71(3):209-49.
2. Toriola AT, Colditz GA. Trends in breast cancer incidence and mortality in the United States: implications for prevention. Breast Cancer Research and Treatment. 2013;138(3):665-73.
3. Abachizadeh K, Moradi-Kouchi A, Ghanbari-Motlagh A, Kousha A .et al. Breast cancer in Iran: Levels, variations and correlates. Community Health (Salāmat-i ijtimāi). 2018;5(1):11-21.
4. Lee EY, To H, Shew JY, Bookstein R .et al. Inactivation of the retinoblastoma susceptibility gene in human breast cancers. Science. 1988;241(4862):218-21.
5. T'Ang A, Varley JM, Chakraborty S, Murphree AL .et al. Structural rearrangement of the retinoblastoma gene in human breast carcinoma. Science. 1988;242(4876):263-6.
6. Carlevaro-Fita J, Lanzós A, Feuerbach L, Hong C .et al. Cancer LncRNA Census reveals evidence for deep functional conservation of long noncoding RNAs in tumorigenesis. Communications Biology. 2020;3(1):1-16.
7. Morlando M, Fatica A. Alteration of Epigenetic Regulation by Long Noncoding RNAs in Cancer. International Journal of Molecular Sciences. 2018;19(2):570.
8. Do H, Kim W. Roles of Oncogenic Long Non-coding RNAs in Cancer Development. Genomics & Informatics. 2018;16(4):e18.
9. Seifuddin F, Singh K, Suresh A, Judy JT .et al. lncRNAKB, a knowledgebase of tissue-specific functional annotation and trait association of long noncoding RNA. Scientific Data. 2020;7(1):1-16.
10. Kretz M. *TINCR*, *staufen1*, and cellular differentiation. RNA Biol. 2013;10(10):1597-601.
11. Iwakiri J, Terai G, Hamada M. Computational prediction of lncRNA-mRNA interactions by integrating tissue specificity in human transcriptome. Biology Direct. 2017;12(1):1-8.
12. Liu Y, Du Y, Hu X, Zhao L .et al. Up-regulation of ceRNA *TINCR* by SP1 contributes to tumorigenesis in breast cancer. BMC Cancer. 2018;18(1):367.
13. Livak KJ, Schmittgen TD. Analysis of relative gene expression data using real-time quantitative PCR and the 2(-Delta Delta C(T)) Method. Methods. 2001;25(4):402-8.
14. Ono Y, Yoshimura M, Hirata K, Yamauchi C .et al. The impact of age on the risk of ipsilateral breast tumor recurrence after breast-conserving therapy in breast cancer patients with a > 5 mm margin treated without boost irradiation. Radiat Oncol. 2019;14(1):121.
15. Dong H, Hu J, Zou K, Ye M .et al. Activation of LncRNA *TINCR* by H3K27 acetylation promotes Trastuzumab resistance and epithelial-mesenchymal transition by targeting MicroRNA-125b in breast Cancer. Mol Cancer. 2019;18(1):3
16. Kang Z, Jifu E, Guo K, Ma X .et al. Knockdown of long non-coding RNA *TINCR* decreases radioresistance in colorectal cancer cells. Pathol Res Pract. 2019;215(11):152622.
17. Xu TP, Liu XX, Xia R, Yin L .et al. SP1-induced upregulation of the long noncoding RNA *TINCR* regulates cell proliferation and apoptosis by affecting *KLF2* mRNA stability in gastric cancer. Oncogene. 2015;34(45):5648-61.
18. Xu TP, Wang YF, Xiong WL, Ma P .et al. E2F1 induces *TINCR* transcriptional activity and accelerates gastric cancer progression via activation of *TINCR/STAU1/CDKN2B* signaling axis. Cell Death Dis. 2017;8(6):e2837.
19. Hu M, Han Y, Zhang Y, Zhou Y .et al. lncRNA *TINCR* sponges miR-214-5p to upregulate *ROCK1* in hepatocellular carcinoma. BMC Med Genet. 2020;21(1):2.
20. Tian F, Xu J, Xue F, Guan E .et al. *TINCR* expression is associated with unfavorable prognosis in patients with hepatocellular carcinoma. Biosci Rep. 2017;37(4):BSR20170301.

21. Xu Y, Qiu M, Chen Y, Wang J .et al. Long noncoding RNA, tissue differentiation-inducing nonprotein coding RNA is upregulated and promotes development of esophageal squamous cell carcinoma. *Dis Esophagus*. 2016;29(8):950-8.
22. Tao S, Wang L, Zhu Z, Liu Y .et al. Adverse effects of bisphenol A on Sertoli cell blood-testis barrier in rare minnow *Gobiocypris rarus*. *Ecotoxicol Environ Saf*. 2019;171:475-83.
23. Xia H, Xiu M, Gao J, Jing H. LncRNA PLAC 2 downregulated miR-21 in non-small cell lung cancer and predicted survival. *BMC Pulm Med*.2019;19(1):172.
24. Zhu ZJ, He JK. TINCR facilitates non-small cell lung cancer progression through BRAF-activated MAPK pathway. *Biochem Biophys Res Commun*. 2018;497(4):971-7.
25. Xu S, Kong D, Chen Q, Ping Y .et al. Oncogenic long noncoding RNA landscape in breast cancer. *Mol Cancer*. 2017;16(1):129.
26. Dong L, Ding H, Li Y, Xue D .et al. LncRNA TINCR is associated with clinical progression and serves as tumor suppressive role in prostate cancer. *Cancer Manag Res*. 2018;10:2799-807.
27. Chen F, Qi S, Zhang X, Wu J .et al. lncRNA PLAC2 activated by H3K27 acetylation promotes cell proliferation and invasion via the activation of Wnt/betacatenin pathway in oral squamous cell carcinoma. *Int J Oncol*. 2019;54(4):1183-94.
28. Zhou W, Zhang S, Li J, Li Z .et al. lncRNA TINCR participates in ALA-PDT-induced apoptosis and autophagy in cutaneous squamous cell carcinoma. *Journal of Cellular Biochemistry*.2019;120(8):13893-902.

The association of *TINCR* downregulation with tumor size of breast cancer patients and its lymph node metastasis

Shaghghi Torkdari Z Ph.D., Khalaj-Kondori M* Ph.D., Hosseinpour Feizi MA Ph.D.

. Department of Animal biology, Faculty of Natural Sciences, University of Tabriz, Tabriz, Iran

* Email corresponding author: khalaj@tabrizu.ac.ir

Received: 11 Apr. 2021

Accepted: 19 Sep. 2021

Abstract

Aim: This study aimed to evaluate the expression levels of *TINCR* in tumor and adjacent non-tumor tissues of 50 women diagnosed with invasive ductal carcinoma. The association of *TINCR* expression and the clinical characteristics of patients have also been studied.

Material and Methods: Total RNA was isolated from tumor and adjacent non-tumor tissues of breast cancer patients using RNX-Plus. Then, PrimeScript™ RT reagent was used for converting total RNA to cDNA. *TINCR* lncRNA levels were quantified by qRT-PCR and results were analyzed with paired sample t test. Moreover, for evaluation the *TINCR* biomarker potential, ROC curve analysis was used in breast cancer tumor tissues.

Results: Reduced levels of *TINCR* were obtained in tumor tissues of breast cancer patients compared with adjacent non-tumor tissues ($P < 0.0001$). *TINCR* expression had negative association with tumor size and lymph node metastasis in breast cancer tumor tissues.

Conclusion: *TINCR* lncRNA downregulation in tumor tissues of breast cancer patients indicates that its expression level could discriminate the tumor from non-tumor tissues in breast cancer patients. Furthermore, *TINCR* lncRNA have low levels in breast cancer patients with large tumor size, positive lymph node metastasis and luminal A and B subtypes.

Keywords: Breast cancer, Downregulation, LncRNA, *TINCR*