دانشگاه تربیت مدرّس

دانشکده علوم زیستی

پایان‌نامه دوره‌ی کارشناسی ارشد زیست شناسی گرایش ژنتیک

عنوان:

بررسی بیان miR-302 و miR-145 در نمونه‌های پارافینه سرطان مری و مقایسه آن با بافت‌های حاشیه توموری

نگارش:

مجتبی تبریزی

استاد راهنما:

دکتر سید جواد مولی

استاد مشاور اول:

دکتر محمد واسعی

استاد مشاور دوم:

دکتر نادر منصورسمائی

تیر ۱۳۹۱

تقدیم به

خانواده عزیز، اساتید گرانقدر و دوستان خوبم

چکیده

مقدمه و هدف: سرطان مری یکی از کشنده ترین سرطان ها در سرتاسر جهان می باشد. استان گلستان یکی از بالاترین نرخ های شیوع سرطان سلول های سنگفرشی مری در جهان را دارد. MicroRNA ها یک گروه از RNA های غیر کد کننده هستند که بیان تنظیم نشده آن ها با بسیاری از سرطان ها در ارتباط است. خوشه[1] miR-302-367 شامل نه microRNA است، که بیان آن ها محدود به سلول های بنیادی جنینی و سلول های کارسینومای جنینی است و از تنظیم کننده های حالت بنیادی می باشند. با توجه به بازبیان برخی از ژن های تکوینی در روند توموری شدن، به دنبال بررسی میزان بیان این miRNA در سرطان مری در مقایسه با بافت غیر توموری بودیم. از سوی دیگر، miR-145 نقش مهمی در کنترل وقایع مختلف سلولی از جمله تکثیر، تمایز و آپوپتوز ایفا می کند. این microRNA نقش مهار کننده توموری[2] دارد و بیان آن در بسیاری از سرطان‌ها کاهش می یابد. در این تحقیق به دنبال بررسی تغییرات بیان این microRNA در سرطان مری بودیم.

مواد و روش ها: از نمونه های پارافینه برش هایی تهیه شد و نواحی توموری و حاشیه توموری در آن ها توسط پاتولوژیست تعیین شد. استخراج RNA، سنتز cDNA و real-time PCR برای آن ها انجام گرفت. نتایج توسط نرم افزار LinRegPCR پردازش شد و در نهایت بیان ژن توسط نرم افزار Rest 2009 آنالیز شد.

یافته ها: نتایج حاکی از آن است که میزان بیان miR-302b در کل نمونه ها و در هیچ یک از دسته بندی های تومور، بر اساس میزان تمایز یافتگی، بین نمونه های توموری و حاشیه توموری تفاوت معنی داری ندارد ($P > ۰/۰۵$). اما بیان miR-145 در نمونه های توموری نسبت به حاشیه توموری در مجموع نمونه ها کاهش نشان داد ($P \leq ۰/۰۱$). همچنین آنالیز نمونه ها بر اساس میزان تمایزیافتگی، نشان داد این کاهش بیان در نمونه های با تمایز پائین[3] و تمایز خوب[4] از لحاظ آماری معنی دار بود ($P \leq ۰/۰۵$).

بحث و نتیجه گیری: این نتایج نشان داد که بیان miR-302b، یک نشانگر اختصاصی سلول های بنیادی، در سرطان مری افزایش نمی یابد. همچنین این یافته ها با فعالیت مهار کننده توموری miR-145 در انطباق است و اهمیت این microRNA را به عنوان یک نشانگر برای تشخیص و یک هدف برای درمان سرطان نشان می دهد.

کلمات کلیدی: سرطان مری، miR-302b، نشانگر اختصاصی سلول های بنیادی، miR-145، مهار کننده تومور[5]

[1] Cluster
[2] tumor suppressor
[3] poorly differentiated
[4] well differentiated
[5] tumor suppressor

فهرست مطالب

عنوان **صفحه**

فهرست مطالب ..... ه

فهرست جدول‌ها ..... ط

فهرست شکل‌ها ..... ي

فصل اول-مقدمه ۱

۱-۱- پیشگفتار ۲

۱-۲- آناتومی مری ۷

۱-۳- سرطان مری ۸

۱-۳-۱- طبقه بندی ۸

۱-۳-۱-۱- مرحله بندی سرطان ۹

۱-۳-۱-۲- درجه تومور ۱۱

۱-۳-۲- نشانه ها و علائم ۱۳

۱-۳-۳- عوامل موثر در افزایش خطر سرطان مری ۱۳

۱-۳-۴- تشخیص ۱٤

۱-۳-۵- درمان ۱٥

۱-۳-۶- پیش آگهی ۱٦

۱-۳-۷- اپیدمیولوژی ۱٦

۱-۴- منشا سرطان ۱۸

۱-۴-۱- فرضیه منشا کلونال سرطان ۱۸

۱-۴-۲- فرضیه سلول های بنیادی سرطانی ۱۹

۱-۴-۲-۱- سلول های بنیادی ۱۹

۱-۴-۲-۲- نقش سلول های بنیادی در سرطان ۲۰
۱-۵- MicroRNA ها ۲۲
۱-۵-۱- شناسایی microRNA ها ۲۳
۱-۵-۲- بیوژنز microRNA ها ۲۳
۱-۵-۳- رونویسی microRNA ها ۲٤
۱-۵-۴- پردازش در هسته ۲۵
۱-۵-۵- خروج از هسته ۲۵
۱-۵-۶- پردازش در سیتوپلاسم ۲٦
۱-۵-۷- RNA-induced silencing complex (RISC) ۲٦
۱-۵-۸- مکانیسم مهار توسط miRNA ۲۷
۱-۵-۹- عملکرد سلولی ۲۸
۱-۵-۱۰- microRNA ها و سرطان ۲۹
۱-۶- بیان و عملکرد خوشه miR-302-367 ..... ۳۰
۱-۶-۱- ساختار ژن miR-302-367 ..... ۳۱
۱-۶-۲- فعالیت پروموتر miR-302-367 ..... ۳۳
۱-۷- بیان و عملکرد miR-145 ..... ۳٤
۱-۷-۱- نقش miR-145 در سلول های بنیادی ۳۷
۱-۸- ضرورت تحقیق و اهداف آن ٤۰
فصل دوم- مواد و روش‌ها ٤٤
۲-۱- جمع آوری نمونه ٤۵
۲-۲- استخراج RNA ٤۸
۲-۲-۱- پارافین زدائی ٤۸
۲-۲-۲- استخراج RNA تام با تریزول ۵۰
۲-۳- سنجش غلظت و خلوص RNA ۵۱

۲-۴- حذف آلودگی احتمالی DNA (تیمار با Dnase) ۵۲
۲-۵- سنجش بیان microRNA توسط کیت miRCURY LNA™ Universal RT microRNA PCR ۵٤
۲-۵-۱- سنتز cDNA ۵٦
۲-۵-۲- پرایمر های miR-302b، miR-145 و 5S rRNA ۵٦
۲-۵-۳- آماده سازی پرایمر ها ۵۷
۲-۵-۴- Real-time PCR ۵۸
۲-۵-۴-۱- انجام real-time RT-PCR با دستگاه Applied Biosystems 7500 ..... ۵۹
۲-۵-۵- روش Ct مقایسه ای (ΔΔCT) ۵۹
۲-۵-۶- روش Pfaffl ٦۰
۲-۵-۷- مفهوم کارایی پرایمر ٦۰
۲-۶- هیبریداسیون درجا (ISH) ٦۱
۲-۶-۱- روش انجام ISH روی بلوک های پارافینه ٦۳
۲-۶-۲- روش انجام ISH روی سلول های NT2 ..... ۷۲
۲-۶-۲-۱- کشت، پاساژ و انجماد رده سلولی تراتوکارسینومای جنینی ۷۲
۲-۶-۲-۲- ISH بر روی کشت سلول ۷۵
فصل سوم- نتایج ۷۷
۳-۱- بررسی کیفیت و کمیت RNA ی استخراج شده ۷۸
۳-۲- تایید اختصاصیت پرایمر ها در تکثیر قطعات ۷۸
۳-۳- تعیین کارایی پرایمر ها ۸۲
۳-۴- نتایج Real-time PCR ۸۳
۳-۵- آنالیز با نرم افزار Rest 2009 بر اساس میزان تمایز یافتگی ۸۵
۳-۶- نتایج بررسی میزان بیان miR-302b ۸٦
۳-۷- نتایج بررسی میزان بیان miR-145 ..... ۸۷

۳-۸- نتایج ISH ۸۸

فصل چهارم-بحث و نتیجه‌گیری ۹۶

۴-۱- اهمیت کار بر روی نمونه های پارافینه و مشکلات مربوط به آن ۹۷

۴-۲- تفسیر نتایج حاصل از بیان miR-302b ۹۸

۴-۳- تفسیر نتایج حاصل از بیان miR-145 ..... ۱۰۱

۴-۴- پیشنهاد ها جهت تحقیقات آینده ۱۰۳

فهرست مراجع ۱۰۵

فهرست جدول‌ها

عنوان **صفحه**

جدول۲-۱: اطلاعات مربوط به کلیه نمونه ها بر اساس میزان تمایز یافتگی، میزان آماس، سن و جنسیت ٤٦

جدول ۲-۲: تعداد نمونه ها در هر زیرگروه بر اساس میزان تمایز یافتگی..... ٤٨

جدول ۲-۳: مواد سازنده بافر پروتئیناز K (PH=8) جهت استخراج RNA..... ٤٩

جدول ۲-۴: مراحل و زمان دپارافینه کردن ٦٤

جدول ۲-۵: ساخت بافر پروتئیناز K جهت ISH (PH= 7.4) و مقادیر محاسبه شده برای حجم ۵۰ میلی لیتر ٦٥

جدول ۲-۶: مراحل آبگیری ٦٦

جدول ۲-۷: مراحل شستشوی اسلاید ها..... ٦٨

جدول ۲-۸: ساخت بافر 20xSSC ٦٨

جدول ۲-۹: ساخت بافر آلکالین فسفاتاز (PH= 9.5) و مقادیر محاسبه شده برای حجم ۸۰ میلی لیتر. ٧٠

جدول ۲-۱۰: مراحل آبگیری ٧١

جدول۲-۱۱: ساخت محلول پارافرمآلدئید ۴٪ وزنی حجمی..... ٧٥

جدول۳-۱: میانگین کارایی پرایمر ها..... ٨٢

جدول۳-۲: Ct های میانگین حاصل از real-time ٨٤

فهرست شکل‌ها

عنوان **صفحه**

شکل ۱-۱: آناتومی مری ۷

شکل ۱-۲: مراحل سرطان مری ۱۱

شکل ۱-۳: کمربند سرطان مری در آسیای مرکزی از ایران تا چین امتداد یافته است[۵۵]. ۱۷

شکل ۱-۴: مدل رایج سنتز و فعالیت miRNA ۲۷

شکل ۱-۵: ساختار خوشه miR-302-367 ..... ۳۲

شکل ۱-۶: مسیر های سیگنالینگ خوشه miR-302-367 در حفظ حالت خودبازسازی و پرتوانی ۳٤

شکل ۱-۷: یک مدل کلی از فعالیت miR-145 به عنوان مهار کننده تومور ۳٦

شکل ۱-۸: نقش microRNA ها در تنظیم تعادل در سلول های بنیادی ۳۹

شکل ۲-۱: طرح کلی برای سنجش میزان بیان هر microRNA ٥٤

شکل ۲-۲: طرح شماتیک تکثیر microRNA بوسیله استفاده از دم پلی A ٥٥

شکل ۲-۳: ساختار قفل شده LNA ٥۷

شکل ۲-۴: طرح کلی ISH ٦۲

شکل ۳-۱: ژل پلی اکریل آمید ۷۹

شکل۳-۲: منحنی ذوب برای miR-302 (A، miR-145 (B، 5s rRNA (C و U6 snRNA (D. ۸۰

شکل ۳-۳:منحنی تکثیر سیگموئیدی برای miR-302 (A، miR-145 (B، 5s rRNA (C و U6 (D snRNA ۸۲

شکل ۳-۴: میزان بیان miR-302b در کل نمونه ها اختلاف معنی داری بین نمونه های توموری و غیر توموری نداشت. ۸٦

شکل ۳-۵: مقایسه میزان بیان miR-302b در مجموع نمونه ها (Total)، نمونه های با ترکیبی از درجات تمایزیافتگی ۸۶

شکل ۳-۶: میزان بیان miR-145 در نمونه های توموری نسبت به غیر توموری کاهش معنی داری داشت. ۸۷

شکل ۳-۷: مقایسه میزان بیان miR-145 در مجموع نمونه ها (Total)، نمونه های با ترکیبی از درجات تمایزیافتگی ۸۷

شکل ۳-۸: ISH پروب U6 snRNA با سه زمان مختلف پروتئیناز K بر روی نمونه های سرطان مری. ۸۹

شکل ۳-۹: منحنی تکثیر miR-302b و U6 snRNA در نمونه دیسژرمینوما..... ۹۰

شکل ۳-۱۰: منحنی تکثیر miR-302b و 5S rRNA در نمونه تومور کیسه زرده ۹۲

شکل ۳-۱۱: ISH مربوط به تومور کیسه زرده با پروب U6 snRNA با غلظت ۵۰ نانو مولار ۹۳

شکل ۳-۱۲: ISH مربوط به تومور کیسه زرده با پروب miR-302b با غلظت ۱۰۰ نانو مولار، دمای شستشوی ^{o}C ۲ و دمای هیبریداسیون ^{o}C ۴۵ ..... ۹۳

شکل ۳-۱۳: ISH مربوط به تومور کیسه زرده با پروب Scrambled با غلظت ۱۰۰ نانو مولار، دمای شستشوی ^{o}C ۲ و دمای هیبریداسیون ^{o}C ۴۵ ..... ۹۴

شکل ۳-۱۴: ISH مربوط به تومور کیسه زرده با پروب miR-302b با غلظت ۱۰۰ نانو مولار، دمای شستشوی ^{o}C ۲۰ و دمای هیبریداسیون ^{o}C ۴۷ ..... ۹۴

شکل ۳-۱۵: حذف سیگنال های غیر اختصاصی پروب Scrambled با افزایش دمای شستشو و هیبریداسیون ۹۵

فصل اول

مقدمه

۱-۱- پیشگفتار

سرطان مری[1] یکی از کشنده ترین سرطان‌ها در سرتاسر جهان می باشد، که مطالعات کمی روی آن انجام شده است[۱]. این سرطان ششمین سرطان شایع در دنیا به شمار می آید و از ویژگی‌های آن پیشرفت سریع و کشنده بودن آن می باشد. احتمال وقوع سرطان با افزایش سن زیاد می شود و بیشتر افراد مبتلا ۵۰ تا ۷۰ ساله اند. نرخ مرگ و میر تقریبا ۹۰٪ وقوع بیماری است[۲].

سرطان سلول‌های سنگفرشی مری (ESCC[2]) و آدنوکارسینوما[3] دو نوع شایع این سرطان می باشند[۳]. استان گلستان در شمال شرقی ایران یکی از بالاترین نرخ‌های شیوع سرطان سلول‌های سنگفرشی مری در جهان را دارد[۴]. مطالعات اولیه میزان شیوع بالا در نواحی ترکمن نشین استان گلستان را گزارش کرده بودند[۵]؛ اما مطالعات بعدی نشان دادند اختلاف معنی داری بین ترکمن‌ها و غیر ترکمن‌ها از لحاظ زمینه[4] ژنتیکی که آن‌ها را مستعد بیماری کند وجود ندارد. بر این اساس عوامل محیطی احتمالا نقش مهم تری نسبت به زمینه ژنتیکی دارند[۶].

---

[1] Esophageal cancer
[2] ESCC: Esophageal Squamous Cell Carcinoma
[3] Adenocarcinomas
[4] Background

مصرف سیگار، ناس، مواد مخدر، نوشیدن چای داغ، سلامت دهانی نامناسب، مصرف کم میوه‌های تازه و سبزیجات، شرایط اقتصادی اجتماعی نامطلوب و رژیم غذایی حاوی مقادیر کم ویتامین‌های A و C در افزایش وقوع سرطان سلول‌های سنگفرشی مری در این ناحیه از کشورمان نقش دارند[۷-۱۰].

در راستای درمان این بیماری تحقیقات زیادی انجام گرفته است. جراحی، شیمی درمانی، پرتو درمانی[1] و یا ترکیبی از آن‌ها جزو درمان‌های مرسوم می باشند، اگرچه نتایج آن‌ها رضایت بخش نبوده است[۱۱]. درنتیجه تحقیقات روی یافتن درمان‌های اختصاصی متمرکز شده است.

MicroRNA (miRNA) ها امروزه نشانگرهای قدرتمندی جهت تشخیص سرطان به شمار می آیند[۱۲]. این مولکول‌ها یک گروه از RNAهای غیر کد کننده به طول ۲۳-۲۱ نوکلئوتید هستند که نقش‌های متعددی در کنترل مسیرهای سیگنالینگ، متابولیسم، آپوپتوز و نمو برعهده دارند. بعلاوه بیان تنظیم نشده آن‌ها با بسیاری از سرطان‌ها در ارتباط است. ژن‌های کد کننده آن‌ها غالبا در نواحی اینترونی یا در جهت آنتی سنس ژن‌های دیگر قرار دارند و در هسته توسط RNA Pol II نسخه برداری می شوند. pri-miRNA دو رشته ای حاصل شده توسط پروتئین هسته ای DGCR8 یا Pasha که با پروتئین Drosha همراه است شناسائی و متعاقبا توسط Drosha برش زده می شود. محصول یک pre-miRNA است که ساختار سنجاق سری[2] دارد و توسط Exportin-5 به سیتوپلاسم وارد می شود. در این مرحله pre-miRNA توسط آنزیم Dicer به ساختار دو رشته ای miRNA برش می خورد. در این کمپلکس خانواده پروتئینی Argonaute نقش مرکزی ایفا می کند[۱۳-۱۶].

[1] radiotherapy
[2] Hairpin

سابقا تصور می شد microRNAها فقط در سطح بعد از نسخه برداری از طریق جفت شدن بازهای انتهای '5 شان، خصوصا نوکلئوتیدهای ۲ تا ۸ یا ناحیه seed، با انتهای ترجمه نشده '3[1] mRNA بیان ژن را کنترل می کنند. در این منظر microRNAها از طریق مهار ترجمه، کاهش سرعت ترجمه، دآدنیلاسیون[2] mRNA و تسریع تخریب آن و تحریک تخریب پروتئین باعث کاهش بازده پروتئینی می گردند[۱۷]. تحقیقات جدید توانایی این مولکول‌ها در کنترل بیان ژن از طریق تاثیر بر اپی ژنتیک[3] پروموتر را به اثبات رسانده است[۱۸]. بعلاوه نقش این مولکول‌ها در افزایش بیان ژن از طریق تاثیر بر ناحیه ترجمه نشده '5[4] mRNA، میانکنش مستقیم آن‌ها با پروتئین‌ها و کاهش بیان ژن با تاثیر بر ناحیه کد کننده ژن (CDS[5]) نشان داده شده است. مجموعه عوامل ذکر شده اهمیت مطالعه microRNAها را جهت درک بهتر وقایع مختلف از جمله سرطان پر رنگ تر می سازد[۱۹-۲۱].

خوشه miR-302-367 شامل نه microRNA می باشد که از منطقه ای به طول 700-bp در کروموزوم ۴ به صورت پلی سیسترونی[6] نسخه برداری می شود. در واقع این خوشه با ژن LARP7 همپوشانی دارد[۲۲، ۲۳]. پروموتر این مجموعه تحت تاثیر فاکتورهای رونویسی OCT4، SOX2 و NANOG است[۲۴]؛ از این رو بیان این microRNA ها محدود به سلول‌های بنیادی جنینی (ES[7]) با سرعت تکثیر پائین و سلول‌های کارسینومای جنینی (EC[8]) می باشد و طی تمایز بیان آن‌ها کاهش می یابد[۲۵]. در نتیجه این خوشه از واسطه‌های تنظیم کننده حالت بنیادی می باشد، اما جالب این که افزایش بیان آن به تنهایی کافی است تا سلول‌های سرطانی را به سمت حالت بنیادی هدایت کنند[۲۶].

---

1 3'-UTRs: 3'-Untranslated Regions
2 De-adenylation
3 Epigenetic
4 5'-UTRs: 5'-Untranslated Regions
5 CDS: Coding Sequence
6 Polycistronic transcript
7 ES: Embryonic Stem
8 EC: Embryonal Carcinoma

سلول‌های سرطانی پوست که توسط این خوشه ترانسفورم شدند تولید سلول‌های بنیادی القا شده با واسطه microRNA را کردند (mirPS[1])، که نه تنها نشانگرهای اصلی سلول‌های بنیادی از قبیلOCT4 ، SOX2، NANOG، SSEA-3 و SSEA-4 را بیان می کردند، بلکه ژنوم آن‌ها مشابه زیگوت بسیار دمتیله بود. پروفایل بیان ژن‌ها در این سلول‌ها، با سلول‌های بنیادی شباهت زیادی داشت. بعلاوه این سلول‌ها توانایی تمایز به انواع سلول‌ها را داشتند، که یک گزینه مناسب درمانی را فراهم می آورند[۲۷]. افزایش بیان این خوشه باعث تجمع سلول‌ها در فاز S می شود، در حالی که مهار آن باعث تجمع در فاز G1 خواهد شد. همچنین نشان داده شده است که بیان بالای miR-302a مهار بیان Cyclin D1 که یکی از تنظیم کننده‌های اصلی مرحله G1 می باشد را باعث می گردد[۲۸].

miR-145 نقش مهمی در کنترل وقایع مختلف سلولی از جمله تکثیر، تمایز و آپوپتوز ایفا می کند. اگرچه در اکثر موارد برای آن نقش مهار کننده توموری در نظر می گیرند، در موردی نقش انکوژنی نیز به آن نسبت داده شده است[۲۹]. بیان این microRNA در بسیاری از سرطان‌ها کاهش می یابد. این جنبه اهمیت آن را به عنوان یک نشانگر برای تشخیص و یک هدف برای درمان سرطان نشان می دهد[۳۰-۳۲].

miR-145 از منطقه ای به طول ۴/۰۹ کیلو باز در کروموزوم ۵ (5q32-33) نسخه برداری می شود. این microRNA در مجاورت miR-143 واقع شده که در بعضی سندروم‌ها حذف می شود و تصور می شود نسخه برداری از آن همراه با miR-143 باشد؛ اگرچه ساختار pri-microRNA آن هنوز شناسایی نشده است[۳۳]. از سوی دیگر، ناحیه 5q31.1 یکی از مناطق شکننده کروموزومی است که می تواند توجیه کننده کاهش بیان miR-145 در بسیاری از سرطان‌ها باشد[۳۴]. همچنین نشان داده شده پروتئین P53

[1] mirPS: miRNA-induced Pluripotent Stem

با اتصال به پروموتر ژن miR-145 باعث القا بیان آن می شود. از طرف دیگر، P53 از طریق برهمکنش با Drosha باعث افزایش پردازش رونوشت ابتدایی miR-145 می شود که یک سطح تنظیمی جدید در مرحله پس از نسخه برداری را نشان می دهد. بعلاوه این microRNA با مهار c-Myc باعث جلوگیری از تکثیر سلول‌های سرطانی می شود[۳۵، ۳۶].

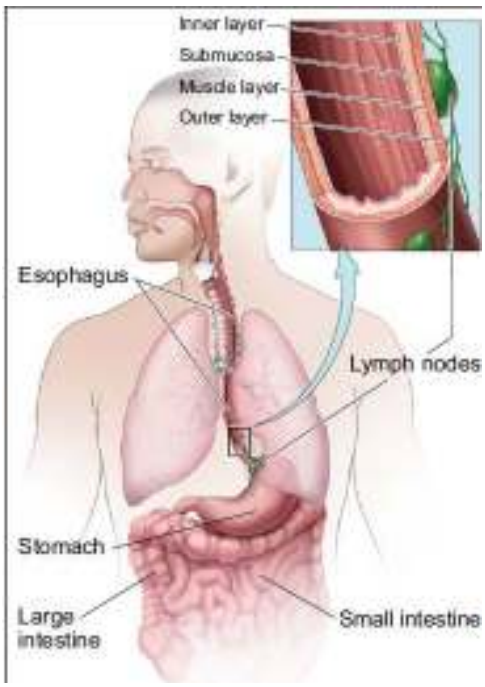
این microRNA در سلول‌های تمایز نیافته به میزان کم بیان می شود و با تمایز میزان آن افزایش می یابد. miR-145 انتهای ترجمه نشده '3 رونوشت‌های OCT4، SOX2 و KLF4 را هدف قرار داده و باعث کاهش بیان آن‌ها می گردد. از سوی دیگر نشان داده شده OCT4 نیز باعث کاهش بیان این microRNA می گردد، که یک فیدبک منفی دو جانبه را بین این پروتئین و miR-145 نمایان می سازد[۳۷].

در خاتمه همان طور که گفته شد از یک طرف خانواده miR-302 تحت تاثیر فاکتورهای رونویسی اختصاصی سلول‌های بنیادی هستند[۲۲]، که با هدف قرار دادن پروتئین‌های تنظیم کننده پرتوانی[1] نقش بسزایی در حفظ حالت خودبازسازی[2] دارند. از سوی دیگر تنظیم کننده‌های اصلی پرتوانی –OCT4 ، SOX2 و KLF4– مستقیما تحت تاثیر miR-145 قرار می گیرند، که کنترل دقیق تکثیر و تمایز سلول-های بنیادی را تضمین می کند. به این ترتیب مهار دوجانبه موجود میان miR-145 و OCT4 ممکن است در خاموش شدن غیر قابل برگشت خودبازسازی و پرتوانی طی تمایز مشارکت کند. برعکس در بسیاری از تومورها miR-145 کاهش بیان می یابد، که پیشنهاد می کند این miRNA ممکن است در حفظ تمایز و مهار تکثیر یک نقش عمومی داشته باشد[۳۸].

[1] Pluripotency
[2] Self-renewal

۱-۲- آناتومی مری

مری اندامی در مهره داران است که شامل یک لوله ماهیچه ای است و از طریق آن غذا از حلق به معده می رسد. در واقع طی بلع، غذا از طریق دهان به حلق، سپس مری و از آنجا توسط حرکات پریستالتیک به معده منتقل می شود.



شکل ۱-۱: آناتومی مری

در این شکل لایه های مختلف مری و موقعیت این عضو نسبت به سایر اعضا نشان داده شده است[۳۹].

۱-۳- سرطان مری[1]

سرطان مری بدخیمی مری است که معمولا منجر به دیسفاژی[2] (سختی بلع)، درد و سایر علایم می شود[۱۵]. این سرطان یکی از بدخیم ترین سرطان های دستگاه گوارش می باشد، که به میزان زیاد در آسیا و جنوب آمریکا شیوع دارد. ایجاد سرطان مری یک فرایند پیش رونده و چند مرحله ای است. شاخص اولیه این فرایند شامل افزایش تکثیر سلول های اپیتلیال مری است[۴۰-۴۲].

در میان انواع مختلف این سرطان، سرطان سلول های سنگفرشی[3] مری بیشتر شایع است و نرخ مرگ و میر بیشتری دارد. روند سرطانی شدن در سطح سلولی در ارتباط با عدم کنترل تکثیر و تمایز سلول ها و مرگ سلولی می باشد. در این روند، تغییرات ژنتیکی مختلفی مثل جهش در ژن p53 و افزایش[4] تعداد کپی ژن cyclin D1 دخیل می باشند[۴۳].

۱-۳-۱- طبقه بندی

سرطان مری معمولا از نوع کارسینوما می باشند که منشا اپیتلیومی دارد. اکثر سرطان های مری در یکی از دو دسته طبقه بندی می شوند:

۱. سرطان سلول های سنگفرشی که شباهت ظاهری با سرطان سر و گردن دارد و با مصرف تنباکو و الکل در ارتباط است.

[1] Esophageal cancer or Oesophageal cancer
[2] dysphagia
[3] squamous cell carcinomas
[4] amplification

۲. آدنوکارسینوما که معمولا با سابقه ریفلاکس[1] (بازگشت محتویات همراه با اسید معده به مری و آسیب مخاط مری) و مری بارت (که در آن مخاط سنگفرشی طبیعی انتهای تحتانی مری با مخاط استوانه‌ای حاوی سلول‌های ترشحی - مشابه بافت روده- جایگزین شده‌اند) همراه است.

به طور کلی سرطان های دو سوم بالایی مری از نوع سرطان سلول های سنگفرشی و موارد یک سوم پائینی از نوع آدنوکارسینوما می باشند. موارد نادر این سرطان ترکیبات مختلفی از سرطان سلول های سنگفرشی و تومور های غیر اپیتلیال از قبیل لیومیوسارکوما[2]، ملانومای بدخیم[3]، رابدومیوسارکوما[4] و لنفوما[5] هستند[۴۴، ۴۵].

۱-۳-۱-۱- مرحله بندی سرطان[6]

مرحله بندی بر اساس آگهی از شیوه پیشرفت سرطان انجام می شود. سلول های سرطانی بدون کنترل رشد می کنند و تقسیم می شوند، ولی در زمان مقرر نمی میرند. در نتیجه یک توده بافتی به نام تومور را ایجاد می کنند. هنگامی که تومور رشد می کند به بافت ها و اندام های مجاور تهاجم می کند. سلول های سرطانی می توانند از تومور مهاجرت کنند و به جریان خون و یا سیستم لنفی وارد شوند. با حرکت در خون و یا سیستم لنفی، سلول های سرطانی می توانند از محل اولیه خود به گره های لنفی و یا سایر اندام ها گسترش یابند. ایجاد سرطان در محل جدید متاستاز[7] خوانده می شود.

سرطان مری شامل مراحل زیر می باشد:

---

[1] gastroesophageal reflux disease
[2] leiomyosarcoma
[3] malignant melanoma
[4] rhabdomyosarcoma
[5] lymphoma
[6] Cancer Staging
[7] metastasis