

چکیده

مقدمه: لوسمی لنفوبلاستیک حاد T (T-ALL) یکی از شایع ترین بدخیمی های مرتبط با لنفوسیت های T می باشد. یکی از مکانیسمهایی که نقش مهمی در ایجاد و گسترش لوسمی ایفاء می کند تغییرات اپی ژنتیکی است. سطوح افزایش یافته EZH2 نقش مهمی در پاتوفیزیولوژی برخی بیماری های هماتولوژیکی از جمله لنفوم بورکیت دارد. هدف از این مطالعه سرکوب بیان ژن EZH2 به وسیله ی RNA کوچک مداخله گر (siRNA) در رده ی سلولی MOLT-4 و بررسی اثرات آن در آپوپتوز سلولی و بیان ژن های NOTCH1، TCF-1، GATA3، NFATC1، IKZF1 در رده ی سلولی لوسمی لنفوبلاستیک حاد T است.

مواد و روش ها: siRNA اختصاصی EZH2 به سلول های لوسمی لنفوبلاستیک رده ی سلولی (MOLT-4) انتقال داده شد. سطح بیان EZH2، NOTCH1، TCF-1، GATA3، NFATC1، IKZF1 از طریق qRT-PCR اندازه گیری شدند. میزان افزایش حساسیت و کشندگی siRNA از طریق آزمایش MTT و اثر القا مرگ سلولی توسط آزمایش فلوسایتومتری اندازه گیری شد.

یافته ها: با ترانسفکشن siRNA EZH2 در سلول های MOLT-4، بیان ژن EZH2 به صورت وابسته به دوز کاهش یافت. کاهش بیان EZH2 تاثیری روی زیست پذیری و آپوپتوز سلول های MOLT-4 نداشت و نشان داده شد که EZH2 بیان ژن های را تحت تاثیر قرار می دهد، به طوریکه مهار ژن EZH2 میزان بیان Notch1، NFATC1 را به طور موثری کاهش و بیان IKZF1 و TCF-1 را افزایش داد. با مهار EZH2

میزان بیان GATA-۳ کاهش پیدا میکند ولی این کاهش از نظر آماری معنادار نبود.

نتیجه گیری: مطالعه‌ی ما نشان داد ژن EZH2 در رده‌ی سلولی MOLT-4 نسبت به سلول‌های نرمال افزایش بیان دارد. همچنین مشاهده شد EZH2 ژن‌های Notch1, NFATC1, GATA-3, IKZF-1 و TCF-1 را تحت تاثیر قرار می‌دهد، به طوری‌که سرکوب ژن EZH2 در سلول‌های MOLT-4، میزان بیان Notch1, NFATC1 را که نقش انکوژنی دارند، به طور موثری کاهش و بیان IKZF-1, TCF-1 را که نقش تومور ساپرسوری دارند، افزایش می‌دهد. بنابراین می‌تواند به عنوان جایگزین درمانی قوی در درمان بیماران لوسمی لنفوبلاستیک حاد T در نظر گرفته شود.

MOLT-4, EZH2, siRNA, Transcription factor, T-ALL. واژگان کلیدی:

Evaluation of *EZH2* gene expression silencing effect on expression of its target genes in MOLT-4 cell line

Sahar Safaei, Saeed Solali¹

Department of Hematology, Tabriz University Of Medical Sciences, Tabriz, Iran .

Background: T-cell acute lymphoblastic leukemia is one of most common types of T cell. Growing evidence shows that acquired epigenetic alteration is a major cause of cancer development and progression. The Polycomb Group Protein EZH2 is a transcriptional repressor implicated in epigenetic silencing of target genes. It has been suggested that EZH2 may play an important role in pathophysiology of hematologic diseases such as Burkitt's`. In the present study,

we aimed to suppress EZH2 gene expression using a synthetic small interfering RNA (siRNA) in a cell line of T-ALL and further evaluated apoptotic cell death and the expression of NOTCH1, TCF-1, GATA3, NFATC1, IKZF1 genes in the cell line.

Materials and methods: EZH2-specific siRNA was transfected into the MOLT-4 cell line. The expression of NOTCH1, TCF-1, GATA3, NFATC1, IKZF1 and EZH2 was quantified by quantitative real time PCR. MTT assay was used to measure the influence of the siRNA. Apoptotic cells were assessed by flow cytometry.

Results: we observed Increase expression of EZH2 in MOLT-4 cell lines correlated to normal T cells. siRNA transfection reduced EZH2 expression in a dose dependent manner. We found that decreased expression of EZH2 had no significant effects on apoptosis. The results showed that EZH2 suppression induce a significant increase in IKZF-1 and TCF-1 gene expression and decreased the expression of NOTCH1 and NFATC1 while the effects of EZH2 inhibition on GATA-3 were not statistically significant.

Conclusion: Our results showed that MOLT-4 cell line harbor an elevated level of EZH2 compared with normal human T cells. Suppression of EZH2 was able to enhance tumor suppressor genes (IKZF-1 and TCF-1) and downregulated o

ncogenes (NOTCH1 and NFATC1). Therefore, targeting EZH2 may be an applicable therapeutic approach in T-ALL.

Key words: MOLT-4, EZH, siRNA, Transcription factor, T-ALL, leukemia.