Pejouhesh dar Pezeshki (i.e., Research in Medicine) **Original Article**

The Quarterly Journal of School of Medicine, Shahid Beheshti University of Medical Sciences 2026; Vol. 50; No. 1

Evaluation of TENT4A and TENT4B Genes in Colorectal Cancer: Signaling Pathway Analysis and Expression Evaluation in Cell Lines

Sanaz Haghshenas, Maryam Peymani*

Department of Biology, Shk.C., Islamic Azad University, Shahrekord, Iran.

Received: February 22, 2026; Accepted: August 02, 2026

Abstract

Background and Aim: Colorectal cancer (CRC) is one of the most prevalent malignancies worldwide, and identifying novel molecular biomarkers is essential for early diagnosis and prognostic prediction. TENT4A and TENT4B belong to the family of non- canonical poly (A) polymerases involved in RNA stability and translational regulation. This study aimed to investigate the expression patterns of these genes and their associated signaling pathways in colorectal cancer.

Methods: This descriptive- analytical study was conducted using RNA sequencing (RNA-Seq) data obtained from The Cancer Genome Atlas (TCGA). Differentially expressed genes (DEGs) between tumor and normal tissues were identified using the edgeR package. Functional enrichment analysis was subsequently performed using the KEGG and MSigDB databases. The association between gene expression and patient survival was evaluated using Kaplan–Meier survival analysis and Cox proportional hazards regression. Diagnostic performance was assessed using receiver operating characteristic (ROC) curve analysis. In addition, the expression levels of TENT4A and TENT4B were experimentally validated in the HT29 and HCT116 colorectal cancer cell lines relative to HEK293 cells using quantitative real- time PCR (qRT-PCR).

Results: A total of 4,558 differentially expressed genes were identified (FDR < 0.05). TENT4A and TENT4B were significantly upregulated, whereas TENT5A, TENT5B, and TENT5C were significantly downregulated (FDR < 0.05). Functional enrichment analysis revealed a significant association of these genes with the RNA degradation pathway (adjusted P = 0.00015). Elevated TENT4A expression was significantly associated with poorer overall survival (log-rank P < 0.05) and demonstrated good diagnostic performance (AUC = 0.87, P < 0.0001), whereas TENT4B exhibited moderate diagnostic accuracy (AUC = 0.72, P = 0.01). Furthermore, qRT-PCR confirmed significantly increased expression of both genes in colorectal cancer cell lines compared with HEK293 cells (P < 0.05).

Conclusion: TENT4A appears to be a promising diagnostic and prognostic biomarker for colorectal cancer. Moreover, these findings provide a rationale for future functional investigations and the development of targeted therapeutic strategies involving TENT4A.

Keywords: Colorectal cancer; TENT4A; TENT4B; RNA-Seq; Differentially expressed genes; TCGA; RNA degradation; Molecular biomarker

Please cite this article as: Haghshenas S, Peymani M. Evaluation of TENT4A and TENT4B Genes in Colorectal Cancer: Signaling Pathway Analysis and Expression Evaluation in Cell Lines. Pejouhesh dar Pezeshki. 2026;50(1):13-23.

***Corresponding Author:** Maryam Peymani; **Email:** m.peymani@iau.ac.ir
Department of Biology, Shk.C., Islamic Azad University, Shahrekord, Iran.

[Downloaded from pejouhesh.sbmu.ac.ir on 2026-11-18]

پژوهش در پزشکی
مقاله پژوهشی
فصلنامه علمی- پژوهشی دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی- درمانی شهید بهشتی
دوره ۵۰، شماره ۱، سال ۱۴۰۵ شمسی، صفحات ۱۳ تا ۲۳

ارزیابی ژن‌های TENT4A و TENT4B در سرطان کولورکتال: تحلیل مسیرهای سیگنالینگ و بررسی بیان در رده‌های سلولی

ساناز حق‌شناس، مریم پیمانی*

گروه زیست‌شناسی، واحد شهرکرد، دانشگاه آزاد اسلامی، شهرکرد، ایران.

تاریخ دریافت: ۱۴۰۴/۱۲/۰۳ تاریخ پذیرش: ۱۴۰۵/۰۵/۱۱

چکیده

سابقه و هدف: سرطان کولورکتال (CRC) یکی از شایع‌ترین بدخیمی‌ها در جهان است و شناسایی نشانگرهای زیستی مولکولی جدید برای تشخیص زودهنگام و پیش‌بینی سیر بیماری از اهمیت بالایی برخوردار است. ژن‌های TENT4A و TENT4B از خانواده پلی (A) پلیمرازهای غیرکانونیک هستند که در تنظیم پایداری RNA و کنترل ترجمه نقش دارند. هدف این مطالعه بررسی الگوی بیان این ژن‌ها و تحلیل مسیرهای سیگنالینگ مرتبط با آن‌ها در سرطان کولورکتال بود.

روش کار: این پژوهش یک مطالعه توصیفی بود. داده‌های RNA-Seq بیماران مبتلا به سرطان کولورکتال از پایگاه The Cancer Genome Atlas (TCGA) استخراج شد. ژن‌های دارای بیان تفاضلی (Differentially Expressed Genes; DEGs)، یعنی ژن‌هایی که اختلاف معنی‌دار بیان بین نمونه‌های توموری و طبیعی داشتند، با استفاده از بسته edgeR شناسایی شدند. سپس تحلیل غنی‌سازی مسیرهای زیستی با استفاده از پایگاه‌های KEGG و MSigDB انجام شد. ارتباط بیان ژن‌ها با بقای بیماران و ارزش تشخیصی آن‌ها به‌ترتیب با آزمون Kaplan- Meier، رگرسیون کاکس و منحنی ROC بررسی شد. همچنین، سطح بیان ژن‌های TENT4A و TENT4B در رده‌های سلولی HT29 و HCT116 نسبت به سلول HEK293 با روش Real-Time PCR ارزیابی شد.

یافته‌ها: در مجموع ۴۵۵۸ ژن دارای بیان تفاضلی شناسایی شدند (FDR<0.05). ژن‌های TENT4A و TENT4B افزایش بیان معنی‌داری نشان دادند، در حالی که ژن‌های TENT5A، TENT5B و TENT5C به‌طور معنی‌داری کاهش یافته بود(FDR<0.05). تحلیل غنی‌سازی، ارتباط معنی‌دار این ژن‌ها را با مسیر RNA degradation نشان داد (adjusted P=0.00015). افزایش بیان TENT4A با کاهش بقای بیماران همراه بود (Log-rank P<0.05) و توان تشخیصی بالایی داشت (AUC=0.87، (P<0.0001). در حالی که TENT4B دارای قدرت تشخیصی متوسط بود (AUC=0.72)، (P=0.01). همچنین نتایج Real-Time PCR افزایش معنی‌دار بیان این ژن‌ها را در رده‌های سلولی سرطان کولورکتال نسبت به سلول نرمال نشان داد (P<0.05).

نتیجه‌گیری: به نظر می رسد که TENT4A می‌تواند به عنوان یک بیومارکر بالقوه تشخیصی و پیش‌آگهی‌دهنده در سرطان کولورکتال مطرح باشد و در کنار شواهد موجود، هدف مناسبی برای مطالعات عملکردی و توسعه راهکارهای درمانی هدفمند در آینده محسوب شود.

واژگان کلیدی: سرطان کولورکتال؛ TENT4A؛ TENT4B؛ RNA-Seq؛ بیان تفاضلی ژن؛ TCGA؛ تخریت RNA؛ بیومارکر مولکولی

به این مقاله، به صورت زیر استناد کنید:

Haghshenas S, Peymani M. Evaluation of TENT4A and TENT4B Genes in Colorectal Cancer: Signaling Pathway Analysis and Expression Evaluation in Cell Lines. Pejouhesh dar Pezeshki. 2026;50(1):13-23.

***نویسنده مسئول مکاتبات:** مریم پیمانی؛ **آدرس پست الکترونیکی:** m.peymani@iau.ac.ir
گروه زیست‌شناسی، واحد شهرکرد، دانشگاه آزاد اسلامی، شهرکرد، ایران.

[Downloaded from pejouhesh.sbmu.ac.ir on 2026-11-18]

مقدمه

سرطان کولورکتال (Colorectal Cancer; CRC) یکی از شایع‌ترین بدخیمی‌ها و از علل اصلی مرگ‌ومیر ناشی از سرطان در سراسر جهان است. بر اساس گزارش GLOBOCAN 2020، CRC سومین سرطان شایع و دومین علت مرگ ناشی از سرطان در جهان محسوب می‌شود (۱). روند رو به افزایش بروز این بیماری، به‌ویژه در کشورهای در حال توسعه، اهمیت شناسایی نشانگرهای زیستی جدید برای تشخیص زودهنگام و پیش‌بینی سیر بیماری را دوچندان کرده است (۲).

سرطان کولورکتال حاصل تجمع تدریجی تغییرات ژنتیکی و اپی‌ژنتیکی است که منجر به اختلال در مسیرهای کلیدی تنظیم رشد، بقا و تمایز سلولی می‌شود (۳). پروژه The Cancer Genome Atlas (TCGA) با ارائه تحلیل جامع مولکولی سرطان کولورکتال، نشان داده است که تغییرات گسترده در بیان ژن‌ها و مسیرهای سیگنالینگ در پاتوژنز این بیماری نقش دارند (۴). استفاده از فناوری توالی‌یابی RNA (RNA-Seq) امکان بررسی جامع الگوهای بیان ژن و شناسایی بیومارکرهای بالقوه را فراهم کرده است (۵).

در سال‌های اخیر، توجه پژوهشگران به نقش تنظیم‌کننده‌های پس از رونویسی RNA در سرطان افزایش یافته است. خانواده آنزیم‌های Terminal Nucleotidyl Transferases (TENTs) با افزودن نوکلئوتیدها به انتهای ′۳RNA ها در تنظیم پایداری RNA و کنترل ترجمه نقش دارند (۶). این آنزیم‌ها شامل پلی‌آدنیلازهای غیرکانونیک هستند که علاوه بر دم‌گذاری کلاسیک poly(A)، در فرآیندهایی مانند تخریب هدفمند RNA و تنظیم پاسخ‌های سلولی نیز مشارکت دارند (۷).

خانواده TENT شامل چندین پلی (A)پلیمراز غیرکانونیک از جمله TENT4A، TENT4B، TENT5A، TENT5B و TENT5C است که هر یک نقش‌های زیستی متمایزی در تنظیم متابولیسم RNA ایفا می‌کنند. مطالعات اخیر نشان داده‌اند که اعضای خانواده TENT5 عمدتاً در فرایندهایی مانند تشکیل ماتریکس خارج‌سلولی، عملکرد سلول‌های ترشحی، تمایز سلولی و تنظیم پاسخ ایمنی نقش دارند و در برخی بدخیمی‌ها، به‌ویژه مولتیپل میلوما، مورد بررسی قرار گرفته‌اند. در مقابل، شواهد موجود درباره نقش TENT4A و TENT4B در سرطان‌های جامد، به‌ویژه سرطان کولورکتال، همچنان محدود است. مطالعات انجام‌شده تاکنون عمدتاً بر عملکرد مولکولی اعضای خانواده TENT در مدل‌های سلولی متمرکز بوده‌اند. برای مثال، Boele و همکاران در سال ۲۰۱۴ با استفاده از رده‌های سلولی انسانی نشان دادند که PAPD5 (TENT4B) از طریق آدنیلاسیون انتهای ′۳ در تنظیم تخریب miR-21 نقش دارد (۸). همچنین، Swain و همکاران در سال ۲۰۲۱ با استفاده از مدل‌های سلولی انسانی گزارش کردند که TENT4A در تنظیم مسیر تحمل آسیب DNA و پایداری mRNA نقش مهمی ایفا می‌کند (۹). علاوه بر این، Lacidogna و همکاران در سال ۲۰۲۵ در یک مطالعه مروری جامع، عملکرد اعضای خانواده TENT را در تنظیم متابولیسم RNA و بیماری‌های مختلف مرور کردند و بر محدود بودن شواهد مربوط به نقش TENT4A و TENT4B در سرطان کولورکتال تأکید نمودند. ازاین‌رو، بررسی اختصاصی بیان و اهمیت زیستی TENT4A و TENT4B در سرطان کولورکتال می‌تواند به روشن شدن نقش این دو ژن در پاتوژنز بیماری و شناسایی نشانگرهای زیستی جدید کمک کند (۱۰).

با وجود نقش شناخته‌شده اعضای مختلف خانواده TENT، اطلاعات مربوط به عملکرد TENT4A و TENT4B در سرطان کولورکتال همچنان محدود است. در میان این خانواده، ژن‌های TENT4A (PAPD7) و TENT4B (PAPD5) به‌دلیل نقش آن‌ها در ایجاد دم‌های پلی (A)مختلط مورد توجه قرار گرفته‌اند. مطالعات نشان داده‌اند که TENT4A و TENT4B با ایجاد دم‌های مختلط حاوی نوکلئوتیدهای غیرآدنین، از دآدنیلاسیون سریع mRNA جلوگیری کرده و موجب افزایش پایداری آن می‌شوند (۱۱). همچنین گزارش شده است که TENT4A در تنظیم مسیرهای مرتبط با تحمل آسیب DNA نقش دارد که این امر می‌تواند در پاتوژنز سرطان اهمیت داشته باشد (۹).

[Downloaded from pejouhesh.sbmu.ac.ir on 2026-11-18]

از سوی دیگر، PAPD5 (TENT4B) در تنظیم miR-21 یکی از oncomiR های شناخته‌شده در سرطان‌ها از طریق آدنیلاسیون و تسهیل تخریب آن نقش دارد و اختلال در این فرآیند با افزایش تکثیر سلولی همراه است (۸). چنین یافته‌هایی نشان می‌دهد که تغییر در فعالیت آنزیم‌های TENT می‌تواند در بیولوژی سرطان نقش تنظیمی مهمی داشته باشد.

اعتبارسنجی یافته‌های بیوانفورماتیکی در مدل‌های سلولی نیز اهمیت زیادی دارد. رده‌های سلولی HCT116 و HT29 از مدل‌های پرکاربرد سرطان کولورکتال هستند که ویژگی‌های مولکولی متمایزی دارند و برای مطالعات مقایسه‌ای مناسب‌اند (۱۲). ادغام داده‌های ترنسکریپتومیک TCGA با تحلیل‌های مسیرهای زیستی و ارزیابی آزمایشگاهی می‌تواند به شناسایی بیومارکرهای جدید تشخیصی و پیش‌آگهی‌دهنده در CRC کمک کند (۱۳).

بر این اساس، هدف از پژوهش حاضر بررسی الگوی بیان ژن‌های TENT4A و TENT4B، تحلیل مسیرهای سیگنالینگ مرتبط با آن‌ها و ارزیابی بیان این ژن‌ها در رده‌های سلولی سرطان کولورکتال بود. بخش آزمایشگاهی این پژوهش در آزمایشگاه بیوتکنولوژی دانشگاه آزاد اسلامی، واحد شهرکرد و در بهار و تابستان سال ۱۴۰۴ انجام شد.

روش کار

نوع مطالعه و ملاحظات اخلاقی

این پژوهش یک مطالعه توصیفی است که با هدف بررسی نقش ژن‌های TENT4A و TENT4B در سرطان کولورکتال انجام شد و شامل دو بخش تحلیل‌های بیوانفورماتیکی و بررسی‌های آزمایشگاهی بود. کلیه مراحل مطالعه مطابق با اصول اخلاق در پژوهش انجام شد و مجوز اخلاق از کمیته اخلاق دانشگاه آزاد اسلامی واحد شهرکرد با کد IR.IAU.SHK.REC.1404.176 دریافت گردید.

تحلیل‌های بیوانفورماتیکی

دریافت و پردازش داده‌ها: داده‌های بیان ژن RNA-Seq سرطان کولورکتال از پایگاه داده The Cancer Genome Atlas (TCGA) دریافت شدند. پس از حذف ژن‌های با بیان پایین، نرمال‌سازی داده‌ها در محیط نرم‌افزار R انجام گرفت (۱۴).

تحلیل بیان تفاضلی ژن‌ها: تحلیل بیان تفاضلی ژن‌ها با استفاده از بسته نرم‌افزاری edgeR انجام شد. ژن‌هایی با مقدار FDR < 0.05 و |logFC| > 0.5 به‌عنوان ژن‌های دارای تغییر بیان معنادار در نظر گرفته شدند (۱۵).

تحلیل بقا و ارزش تشخیصی: به‌منظور بررسی ارتباط سطح بیان ژن‌های مورد مطالعه با بقای بیماران، داده‌های بیان ژن و اطلاعات بالینی متناظر از پروژه The Cancer Genome Atlas (TCGA) استخراج شد. تحلیل بقا در محیط نرم‌افزار R با استفاده از مدل خطرات متناسب کاکس (Cox proportional hazards model) و آزمون Log-rank انجام شد (۱۶). همچنین، توان تشخیصی ژن‌های مورد مطالعه با استفاده از تحلیل منحنی مشخصه عملکرد گیرنده (ROC) و محاسبه سطح زیر منحنی (AUC) در محیط R ارزیابی شد (۱۷).

تحلیل غنی‌سازی مسیرهای سیگنالینگ: برای شناسایی مسیرهای زیستی مرتبط، تحلیل غنی‌سازی با استفاده از پایگاه‌های KEGG و مجموعه ژنی Hallmark از پایگاه MSigDB انجام شد (۱۸، ۱۹). مسیرهای با FDR < 0.05 به‌عنوان مسیرهای معنادار گزارش شدند.

بررسی آزمایشگاهی بیان ژن‌ها

کشت رده‌های سلولی: رده‌های سلولی سرطان کولورکتال HCT116 و HT29 در شرایط استاندارد در محیط کشت DMEM حاوی ۱۰٪ سرم جنین گاوی و در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد و ۵٪ CO_2 کشت داده شدند.

استخراج RNA و سنتز cDNA: RNA تام از سلول‌ها استخراج و کیفیت آن از نظر خلوص و غلظت ارزیابی شد. سنتز cDNA با استفاده از کیت تجاری Reverse Transcriptase طبق دستورالعمل شرکت سازنده انجام گرفت.

[Downloaded from pejouhesh.sbmu.ac.ir on 2026-11-18]

طراحی پرایمرها: پرایمرهای اختصاصی ژن‌های TENT4A، TENT4B و ژن مرجع GAPDH با استفاده از پایگاه NCBI Primer-BLAST طراحی شدند. توالی پرایمرها در جدول ۱ ارائه شده است.

جدول ۱- توالی پرایمرهای مورد استفاده در Real-Time PCR

ژن	توالی پرایمر Forward (5'→3')	توالی پرایمر Reverse (5'→3')
TENT4B	CCTGCCCCTAGAGACGACCA	TGTTGTCGCGCTTCCTCTTG
TENT4A	CCTCGTCCAACGCGGAGT	CGTCGGCGAAGTTGAAGAAG
GAPDH	CCACTCCTCCACCTTTGACG	CCACCACCCTGTTGCTGTAG

Real-Time PCR: سنجش بیان ژن‌های TENT4A و TENT4B با استفاده از روش Real-Time PCR و رنگ SYBR Green انجام شد. واکنش‌ها در حجم نهایی ۲۰ میکرولیتر و در سه تکرار مستقل انجام شدند. برنامه دمایی واکنش‌ها شامل مرحله دناتوراسیون اولیه در دمای ۹۵ درجه سانتی‌گراد به مدت ۵ دقیقه، به‌دنبال آن ۴۰ چرخه شامل دناتوراسیون در ۹۵ درجه سانتی‌گراد به مدت ۱۵ ثانیه، اتصال پرایمرها در دمای ۶۰ درجه سانتی‌گراد به مدت ۳۰ ثانیه و مرحله طویل‌سازی بود. در پایان، آنالیز منحنی ذوب به‌منظور بررسی اختصاصیت واکنش‌ها انجام شد.

بیان نسبی ژن‌ها با استفاده از روش $2^{-\Delta Ct}$ و با نرمال‌سازی نسبت به ژن مرجع GAPDH محاسبه گردید.

تحلیل آماری: تحلیل آماری داده‌ها با استفاده از نرم‌افزار GraphPad Prism انجام شد. نتایج به‌صورت میانگین ± انحراف معیار گزارش شدند. برای مقایسه بین گروه‌ها از آزمون t-test استفاده شد و مقدار $p < 0.05$ به‌عنوان سطح معنی‌داری آماری در نظر گرفته شد.

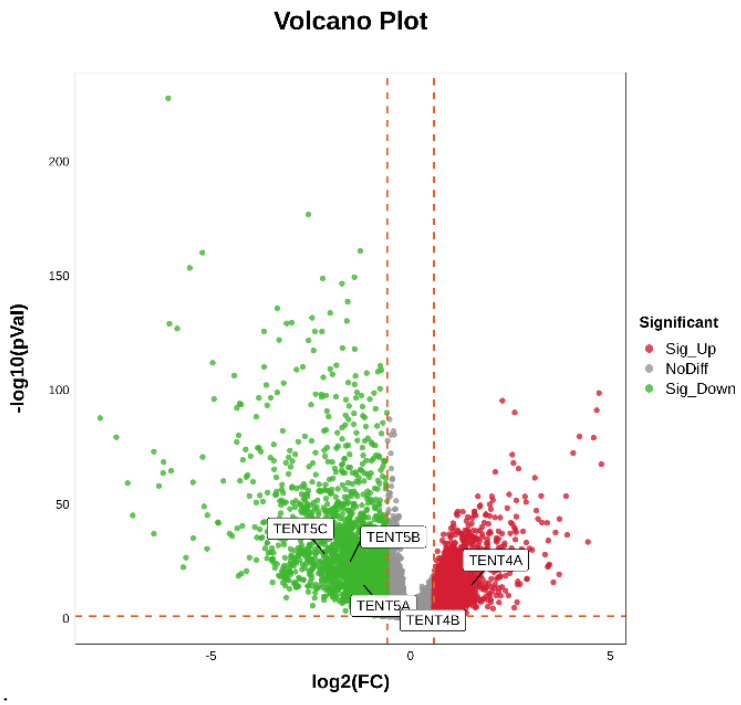
یافته‌ها

در این مطالعه، داده‌های RNA-Seq مربوط به بیماران مبتلا به سرطان کولورکتال از پایگاه The Cancer Genome Atlas (TCGA) استخراج شد. ژن‌های دارای بیان تفاضلی (Differentially Expressed Genes; DEGs) به ژن‌هایی اطلاق می‌شود که اختلاف معنی‌داری در سطح بیان بین نمونه‌های توموری و طبیعی داشته باشند. این ژن‌ها با استفاده از بسته edgeR و بر اساس معیارهای آماری تعیین‌شده شناسایی شدند.

افزایش بیان TENT4A و TENT4B و غنی‌سازی آن‌ها در مسیر تخریب RNA در سرطان کولورکتال

تحلیل داده‌های RNA-Seq مربوط به ۴۸۳ نمونه توموری و ۴۰ نمونه بافت نرمال سرطان کولورکتال از پایگاه The Cancer Genome Atlas (TCGA) نشان داد که مجموعاً ۴۵۵۸ ژن دارای بیان تفاضلی (Differentially Expressed Genes; DEGs) شناسایی شدند. ژن‌های دارای بیان تفاضلی به ژن‌هایی اطلاق می‌شود که اختلاف معنی‌داری در سطح بیان بین نمونه‌های توموری و طبیعی داشته باشند. در نمودار آتشفشانی (Volcano plot)، ژن‌های دارای افزایش معنی‌دار بیان (Upregulated genes) با رنگ قرمز و ژن‌های دارای کاهش معنی‌دار بیان (Downregulated genes) با رنگ سبز نمایش داده شده‌اند. این طبقه‌بندی بر اساس نتایج تحلیل بسته edgeR و معیارهای آماری $FDR < 0.05$ و $|\log_2 FC| \geq 0.5$ انجام شد (نمودار ۱).

[Downloaded from pejouhesh.sbmu.ac.ir on 2026-11-18]



نمودار ۱- نمودار آتشفشانی (Volcano plot) ژن‌های دارای بیان تفاضلی در سرطان کولورکتال بر اساس داده‌های RNA-Seq استخراج‌شده از پایگاه .TCGA ژن‌های دارای افزایش معنی‌دار بیان (Upregulated genes) با رنگ قرمز و ژن‌های دارای کاهش معنی‌دار بیان (Downregulated genes) با رنگ سبز نشان داده شده‌اند. طبقه‌بندی ژن‌ها بر اساس تحلیل بسته edgeRبا معیارهای $FDR < 0.05$و $|\log_2FC| \geq 0.5$ انجام شده است

با تمرکز بر خانواده ژنی TENTs، پنج ژن TENT4A، TENT4B، TENT5A، TENT5B و TENT5C تغییر بیان معناداری نشان دادند. ژن‌های TENT4A و TENT4B به‌طور معناداری افزایش بیان، در حالی که TENT5A، TENT5B و TENT5C کاهش بیان را در نمونه‌های توموری نسبت به بافت نرمال نشان دادند (نمودار ۱).

به‌منظور بررسی پیامدهای عملکردی این تغییرات، تحلیل غنی‌سازی مسیرهای زیستی با استفاده از پایگاه‌های MSigDB و KEGG انجام شد. نتایج نشان داد که پنج ژن کاندید به‌طور معنی‌داری در چندین مسیر زیستی کلیدی، شامل پاسخ به اینترفرون آلفا(adjusted p-value = 0.0048)، پاسخ منفی به اشعه فرابنفش (UV Response Down؛ adjusted p-value = 0.0196)، کاهش سیگنالینگ KRAS (KRAS Signaling Down؛adjusted p-value = 0.0311) ، چک‌پوینت مرحله G2/M چرخه سلولی(G2–M Checkpoint؛ adjusted p-value = 0.0328) و متابولیسم هم(Heme Metabolism؛ adjusted p-value = 0.0490) درگیر هستند. علاوه بر این، مسیر تخریب RNA (RNA degradation) با حضور ژن‌های TENT4A و TENT4B به‌طور برجسته‌ای غنی شده بود (adjusted p-value = 0.00015). این نتایج نشان می‌دهد که ژن‌های مورد بررسی، به‌ویژه TENT4Aو TENT4B، احتمالاً از طریق مشارکت در تنظیم پایداری RNA و سایر مسیرهای مرتبط با پاسخ سلولی و چرخه سلولی، در پاتوژنز و پیشرفت سرطان کولورکتال نقش دارند.

افزایش بیان TENT4A با کاهش بقا و پتانسیل تشخیصی بالای آن همراه است.

تحلیل بقای بیماران با استفاده از مدل رگرسیون کاکس تک‌متغیره و نمودار Kaplan–Meier نشان داد:

- افزایش بیان TENT4A با کاهش معنادار بقای بیماران همراه است.

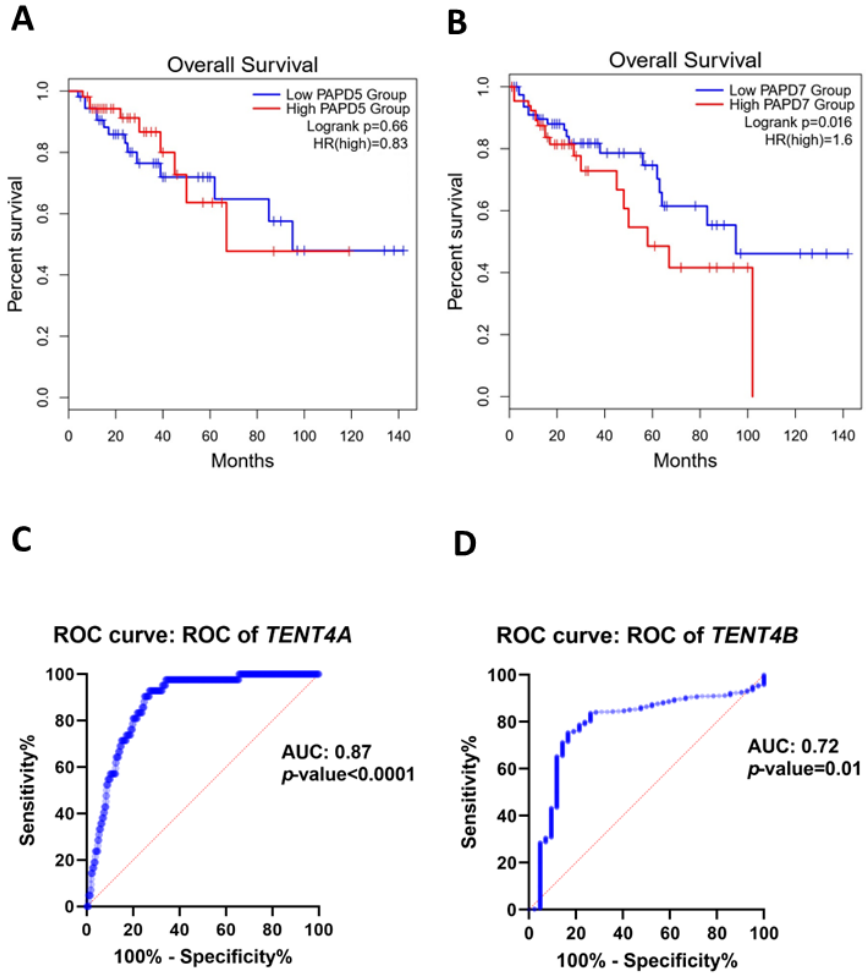
[Downloaded from pejouhesh.sbmu.ac.ir on 2026-11-18]

- TENT4B تغییر بیان معناداری در ارتباط با بقای بیماران نشان نداد (نمودار 2A, 2B).

تحلیل ROC برای ارزیابی پتانسیل تشخیصی ژن‌ها نشان داد:

- TENT4A با AUC = 0.87 ($p < 0.0001$) دارای دقت بالای تشخیصی برای تمایز نمونه‌های توموری از نرمال است.
- TENT4B دقت متوسطی با AUC = 0.72 ($p = 0.01$) داشت (نمودار کل 2C, 2D).

این نتایج نشان می‌دهد که TENT4A پتانسیل بالایی به‌عنوان بیومارکر تشخیصی سرطان کولورکتال دارد.

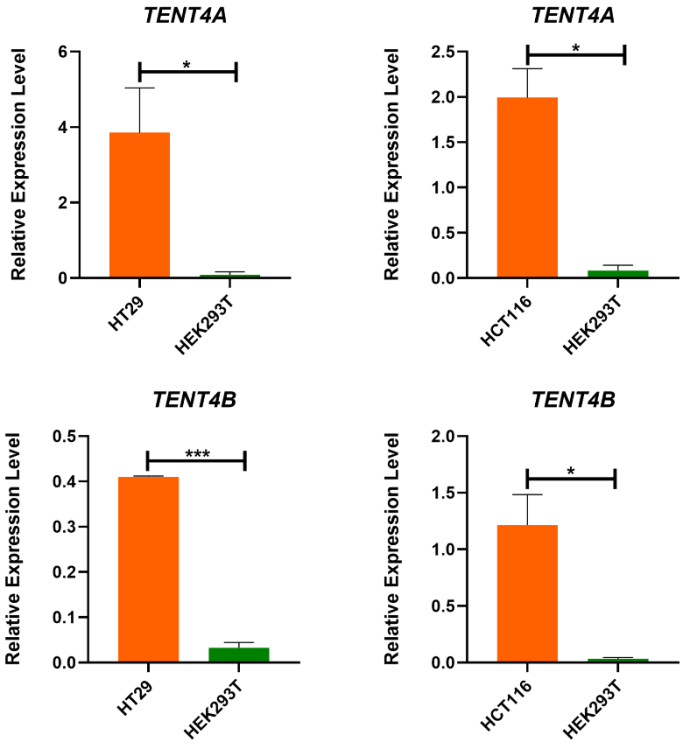


نمودار ۲- (A) نمودار Kaplan–Meier نشان‌دهنده ارتباط بیان ژن‌های TENT4Aو TENT4Bبا بقای بیماران مبتلا به سرطان کولورکتال است. افزایش بیان TENT4A با کاهش معنادار بقا همراه است، در حالی که برای TENT4B ارتباط آماری معناداری مشاهده نشد. (B) منحنی ROC برای ارزیابی ارزش تشخیصی ژن‌های TENT4A و TENT4B در سرطان کولورکتال. ژن TENT4A دقت تشخیصی بالایی (AUC = 0.87) و ژن TENT4B دقت متوسطی (AUC = 0.72) نشان داد.

تغییرات بیان TENT4A و TENT4B در سلول‌های سرطانی کولورکتال

در بررسی‌های آزمایشگاهی با استفاده از Real-Time PCR، سطح بیان ژن‌های TENT4A و TENT4B در رده‌های سلولی سرطانی HT29 و HCT116 در مقایسه با سلول نرمال HEK293 به‌طور معناداری افزایش یافته بود (نمودار ۳).

[Downloaded from pejouhesh.sbmu.ac.ir on 2026-11-18]



نمودار ۳- تغییر سطح بیان نسبی ژن‌های TENT4A و TENT4Bدر دو رده سلولی توموری در مقایسه با رده سلولی نرمال. نتایج نشان‌دهنده افزایش معنادار بیان در رده‌های توموری است (*: $p<0.05$؛ ***: $p<0.001$).

این نتایج آزمایشگاهی، الگوی بیان مشاهده شده در داده‌های TCGAرا تأیید می‌کنند و افزایش بیان TENT4A و TENT4B در سلول‌های سرطانی، نقش آن‌ها را در مسیرهای تخریب RNA و پیشرفت سرطان نشان می‌دهد.

بحث

در مطالعه حاضر، تحلیل داده‌های RNA-Seq و بررسی بیان ژن در رده‌های سلولی نشان داد که ژن‌های TENT4A و TENT4B در سرطان کولورکتال افزایش بیان دارند. همچنین، افزایش بیان TENT4A با کاهش بقای بیماران همراه بود و تحلیل غنی‌سازی عملکردی، مسیر تخریب RNA (RNA degradation) را به‌عنوان مهم‌ترین مسیر مرتبط با این ژن‌ها معرفی کرد. این یافته‌ها نشان می‌دهد که TENT4A و TENT4B ممکن است در تنظیم پایداری RNA و پیشرفت سرطان کولورکتال نقش داشته باشند.افزایش بیان TENT4A و TENT4B در مطالعه حاضر با مطالعات عملکردی پیشین همخوانی دارد .Lim و همکاران نشان دادند که TENT4A و TENT4B با ایجاد دم‌های poly(A) مختلط، از mRNA در برابر deadenylation سریع محافظت کرده و موجب افزایش پایداری آن می‌شوند (۱۱). همچنین، Warkocki و همکاران نقش گسترده اعضای خانواده TENT را در تنظیم متابولیسم RNA، کنترل ترجمه و تنظیم بیان ژن گزارش کردند (۶). این یافته‌ها نشان می‌دهد که افزایش بیان TENT4A و TENT4B احتمالاً با افزایش پایداری رونوشت‌های mRNA مرتبط با تکثیر سلولی و بقای سلول‌های سرطانی همراه است و از این طریق می‌تواند در پیشرفت سرطان کولورکتال نقش داشته باشد. از دیدگاه زیست‌شناسی مولکولی، آنزیم‌های TENT4A و TENT4B با تنظیم طول و ترکیب دم poly(A)، نیمه‌عمر mRNA و کارایی ترجمه بسیاری از ژن‌های مرتبط با چرخه سلولی، پاسخ به آسیب DNA و آپوپتوز را تحت تأثیر قرار می‌دهند. در نتیجه، افزایش بیان TENT4A و TENT4B احتمالاً موجب افزایش ظرفیت سلول برای تنظیم poly(A) tail و در نتیجه افزایش پایداری برخی رونوشت‌های

[Downloaded from pejouhesh.sbmu.ac.ir on 2026-11-18]

سرطان‌زا می‌شود. این مکانیسم می‌تواند ارتباط مشاهده‌شده میان افزایش بیان TENT4A/ TENT4B و سرطان کولورکتال را از نظر زیستی توجیه کند(۱۱). اگرچه سایر اعضای خانواده TENT، ازجمله TENT5A، TENT5B و TENT5C، در تنظیم همئوستازی سلولی، ترشح پروتئین‌ها و برخی بدخیمی‌ها مورد مطالعه قرار گرفته‌اند، تاکنون شواهد اندکی درباره نقش آن‌ها در سرطان کولورکتال گزارش شده است. بنابراین، تمرکز مطالعه حاضر بر TENT4A و TENT4B به دلیل نقش شناخته‌شده این دو آنزیم در تنظیم پایداری mRNA و کمبود مطالعات مرتبط با سرطان کولورکتال، از نوآوری و اهمیت ویژه‌ای برخوردار است.

تحلیل غنی‌سازی مسیرهای عملکردی در مطالعه حاضر نشان داد که مسیر RNA degradation به‌طور معناداری در ارتباط با ژن‌های کاندید قرار دارد. این یافته با مطالعات مربوط به PAPD5 (TENT4B) که نقش آن را در polyadenylation تنظیمی و کنترل کیفیت RNA نشان داده‌اند، همخوانی دارد (۷). علاوه بر این، نقش آنزیم‌های TENT در مسیرهای مرتبط با تخریب و پایش RNA در مطالعات مروری اخیر نیز تأکید شده است (۶). با این حال، بیشتر مطالعات موجود بر نقش TENT4A/B در تنظیم عمومی متابولیسم RNA متمرکز بوده‌اند و شواهد مستقیمی درباره نقش این ژن‌ها در سرطان کولورکتال هنوز محدود است. با این حال، تاکنون مطالعات مستقیمی که نقش TENT4A و TENT4B را در سرطان کولورکتال بررسی کرده باشند، بسیار محدود است و همین موضوع امکان مقایسه مستقیم نتایج حاضر با سایر مطالعات را کاهش می‌دهد. ازاین‌رو، یافته‌های این مطالعه می‌تواند شواهد جدیدی درباره ارتباط این ژن‌ها با پاتوژنز سرطان کولورکتال ارائه دهد؛ هرچند تفسیر این نتایج نیازمند تأیید در مطالعات عملکردی و بالینی آینده است.

علاوه بر مسیر تخریب RNA، تحلیل غنی‌سازی عملکردی نشان داد که ژن‌های مورد مطالعه با چندین مسیر زیستی مهم ازجمله KRAS signaling، G2/M checkpoint، Interferon-α response، UV response و Heme metabolism نیز ارتباط دارند. اگرچه مطالعه حاضر برای اثبات نقش مستقیم TENT4A و TENT4B در این مسیرها طراحی نشده بود، اما همزمانی غنی‌سازی این مسیرها با افزایش بیان این ژن‌ها، این فرضیه را مطرح می‌کند که اختلال در تنظیم پایداری mRNA توسط TENT4A/ TENT4B می‌تواند بیان رونوشت‌های دخیل در این شبکه‌های مولکولی را تغییر دهد. به‌ویژه، در صورتی که پایداری mRNA ژن‌های تنظیم‌کننده چرخه سلولی، پاسخ به استرس و سیگنالینگ انکوژنیک افزایش یابد، می‌توان انتظار داشت که کنترل نقطه وارسی G2/M مختل شده، پاسخ سلول به آسیب DNA تغییر کند و مسیرهای مرتبط با تکثیر و بقای سلول‌های توموری تحت تأثیر قرار گیرند. بنابراین، نتایج این مطالعه از یک مدل زیستی حمایت می‌کند که بر اساس آن، TENT4A و TENT4B از طریق تنظیم پایداریRNA، به‌طور غیرمستقیم شبکه‌ای از مسیرهای مولکولی مرتبط با پیشرفت سرطان کولورکتال را تحت تأثیر قرار می‌دهند .البته اثبات این مکانیسم مستلزم انجام مطالعات عملکردی و مولکولی در آینده است.

در تحلیل بقا، افزایش بیان TENT4A با کاهش معنادار بقا همراه بود. مطالعه‌ای که نقش TENT4A را در تنظیم مسیرهای تحمل آسیب DNA و Translesion DNA Synthesis بررسی کرده است، نشان داد که این آنزیم از طریق تنظیم پایداری mRNA مؤلفه‌های این مسیرها می‌تواند بقای سلول‌های سرطانی را افزایش دهد (۹). این مکانیسم می‌تواند توجیه‌کننده ارتباط مشاهده‌شده میان افزایش بیان TENT4A و پیش‌آگهی نامطلوب باشد. از دیدگاه مولکولی، افزایش پایداری mRNA ژن‌های دخیل در مسیرهای تحمل آسیب DNA می‌تواند موجب افزایش بقای سلول‌های توموری، کاهش حساسیت به درمان و در نهایت بدتر شدن پیش‌آگهی بیماران شود. بنابراین، ارتباط مشاهده‌شده میان افزایش بیان TENT4A و کاهش بقا از نظر زیستی نیز قابل توجیه است.

از سوی دیگر، نقش PAPD5 (TENT4B) در تنظیم miR-21 توسط Boele و همکاران گزارش شده است؛ در این مطالعه نشان داده شد که آدنیلاسیون miR-21 توسط PAPD5 مسیر تخریب آن را تنظیم می‌کند (۸). با توجه به نقش کلیدی miR-21 در

[Downloaded from pejouhesh.sbmu.ac.ir on 2026-11-18]

مسیرهای آنکوژنیکCRC، تغییر در فعالیت TENT4B ممکن است اثرات غیرمستقیمی بر تنظیم شبکه‌های سرطانی داشته باشد. از آنجا که miR-21 یکی از مهم‌ترینmicroRNA های آنکوژنیک در سرطان کولورکتال محسوب می‌شود، تغییر فعالیت TENT4B ممکن است از طریق تغییر پایداری miR-21 و تنظیم بیان ژن‌های هدف آن، بر تکثیر سلولی، مهاجرت و مقاومت درمانی اثرگذار باشد. علاوه بر این، مطالعات اخیر نشان داده‌اند که miR-21 از طریق تنظیم مسیرهایPI3K/AKT، Wnt/β-catenin و TGF-β در تکثیر، مهاجرت، متاستاز و مقاومت دارویی سرطان کولورکتال نقش کلیدی ایفا می‌کند. بنابراین، هرگونه تغییر در تنظیم miR-21 توسط TENT4B می‌تواند پیامدهای مهمی در رفتار بیولوژیک تومور داشته باشد (۲۰).

نتایج حاصل از رده‌های سلولی HT29 و HCT116 نیز افزایش بیان TENT4A و TENT4B را تأیید کرد. این یافته‌ها با داده‌های ژنتیکی مربوط به ویژگی‌های مولکولی این سل‌لاین‌ها هم‌راستا است (۱۲) و این یافته‌ها نشان می‌دهد که بیان TENT4A و TENT4B در محیط توموری افزایش یافته است. همخوانی نتایج حاصل از داده‌های TCGA با یافته‌های رده‌های سلولی، استحکام نتایج مطالعه حاضر را افزایش می‌دهد و نشان می‌دهد که افزایش بیان این ژن‌ها صرفاً محدود به یک مجموعه داده نبوده و در مدل‌های آزمایشگاهی نیز قابل مشاهده است.

نتیجه‌گیری

در مجموع، یافته‌های این مطالعه نشان می‌دهد که TENT4A و TENT4B می‌توانند به‌عنوان نشانگرهای زیستی بالقوه در سرطان کولورکتال مطرح شوند. افزایش بیان این ژن‌ها، ارتباط TENT4A با کاهش بقای بیماران و مشارکت آن‌ها در مسیرهای تنظیم پایداریRNA ، بیانگر نقش احتمالی آن‌ها در پاتوژنز سرطان کولورکتال است. این نتایج بیانگر آن است که TENT4A، به‌ویژه با توجه به ارتباط آن با بقای بیماران، می‌تواند به‌عنوان یک نشانگر پیش‌آگهی (Prognostic biomarker) بالقوه و احتمالاً یک هدف درمانی در مطالعات آینده مورد توجه قرار گیرد علاوه بر این، نتایج این مطالعه می‌تواند زمینه‌ساز طراحی مطالعات عملکردی و بالینی با هدف ارزیابی کاربرد این ژن‌ها در تشخیص زودهنگام، پیش‌بینی پیش‌آگهی و توسعه درمان‌های هدفمند در سرطان کولورکتال باشد. با این حال، برای تعیین دقیق اهداف RNA وابسته به TENT4A/B، بررسی تعامل این ژن‌ها با سایر مسیرهای مولکولی و ارزیابی ارزش درمانی آن‌ها، انجام مطالعات عملکردی در مدل‌های سلولی و حیوانی ضروری است.

ملاحظات اخلاقی

این مطالعه، در دانشگاه آزاد اسلامی واحد شهرکرد بررسی، و با کد اخلاق IR.IAU.SHK.REC.1404.176 ثبت شده است.

تشکر و قدردانی

این مطالعه حاصل بخشی از پایان‌نامه شماره ۱۶۳۱۰۳۳۶۹ خانم ساناز حق‌شناس برای دریافت درجه عالی در رشته ژنتیک مولکولی از دانشکده علوم پایه دانشگاه آزاد اسلامی واحد شهرکرد بود.

از مشارکت‌کنندگان محترم و تمامی بزرگوارانی که در اجرای پژوهش حاضر ما را یاری نمودند، سپاسگزاریم.

تعارض منافع

نویسندگان، تعارض منافعی را گزارش نکرده‌اند.

[Downloaded from pejouhesh.sbmu.ac.ir on 2026-11-18]

References

1. Sung H, Ferlay J, Siegel RL, Laversanne M, Soerjomataram I, Jemal A, Bray F. Global cancer statistics 2020. CA Cancer J Clin. 2021;71(3):209–249.

2. Roshandel G, Ghasemi-Kebria F, Malekzadeh R. Colorectal cancer: epidemiology and prevention. Cancers (Basel). 2024;16:1530.

3. Dunne PD, Arends MJ. Molecular pathological classification of colorectal cancer-an update. Virchows Arch. 2024;484(2):273-285.

4. Cancer Genome Atlas Network. Comprehensive molecular characterization of human colon and rectal cancer. Nature. 2012;487(7407):330–337.

5. Deshpande D, Chhugani K, Chang Y, Karlsberg A, Loeffler C, Zhang J, et al. RNA-seq data science: From raw data to effective interpretation. Front Genet. 2023;14:997383.

6. Warkocki Z, Liudkovska V, Gewartowska O, Mroczek S, Dziembowski A. Terminal nucleotidyl transferases (TENTs) in mammalian RNA metabolism. Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci. 2018;373:20180162.

7. Wen X, Irshad A, Jin H. The Battle for Survival: The Role of RNA Non-Canonical Tails in the Virus–Host Interaction. Metabolites. 2023;13(9):1009.

8. Boele J, Persson H, Shin JW, Ishizu Y, Newie IS, Søkilde R, et al. PAPD5-mediated adenylation of miR-21. Proc Natl Acad Sci U S A. 2014;111(31):11467–11472.

9. Swain U, Friedlander G, Sehrawat U, Sarusi-Portuguez A, Rotkopf R, Ebert C, et al. TENT4A Non-Canonical Poly(A) Polymerase Regulates DNA-Damage Tolerance via Multiple Pathways That Are Mutated in Endometrial Cancer. Int J Mol Sci. 2021;22(13):6957.

10. Lacidogna D, Pennacchio S, Milan E. TENT5/FAM46: An Enigmatic Family of Secretory Tuners. Traffic. 2025 Apr-Jun;26(4-6):e70011.

11. Lim J, Kim D, Lee YS, Ha M, Lee M, Yeo J, et al. Mixed tailing by TENT4A and TENT4B shields mRNA from rapid deadenylation. Science. 2018;361(6403):701–704.

12. Ahmed D, Eide PW, Eilertsen IA, Danielsen SA, Eknæs M, Hektoen M, et al. Epigenetic and genetic features of colon cancer cell lines. Nat Commun. 2013;4:2971.

13. Li C, Wirth U, Schardey J, Ehrlich-Treuenstätt VV, Bazhin AV, Werner J, Kühn F. An immune-related gene prognostic index for predicting prognosis in patients with colorectal cancer. Front Immunol. 2023;14:1156488.

14. Cancer Genome Atlas Research Network; Weinstein JN, Collisson EA, Mills GB, Shaw KR, Ozenberger BA, Ellrott K, et al. The Cancer Genome Atlas Pan-Cancer analysis project. Nat Genet. 2013;45(10):1113-20.

15. Chen Y, Chen L, Lun ATL, Baldoni PL, Smyth GK. edgeR v4: powerful differential analysis of sequencing data with expanded functionality and improved support for small counts and larger datasets. Nucleic Acids Res. 2025 Jan 11;53(2):gkaf018.

16. Cox DR. Regression models and life-tables. J R Stat Soc Series B. 1972;34(2):187-220.

17. Hanley JA, McNeil BJ. The meaning and use of the area under a receiver operating characteristic (ROC) curve. Radiology. 1982;143(1):29-36.

18. Kanehisa M, Furumichi M, Sato Y, Matsuura Y, Ishiguro-Watanabe M. KEGG: biological systems database as a model of the real world. Nucleic Acids Res. 2025;53(D1):D672-7.

19. Liberzon A, Birger C, Thorvaldsdóttir H, Ghandi M, Mesirov JP, Tamayo P. The Molecular Signatures Database (MSigDB) hallmark gene set collection. Cell Syst. 2015;1(6):417-25.

20. Sychowski G, Romanowicz H, Ciesielski W, Hogendorf P, Durczyński A, Smolarz B. Diagnostic and Therapeutic Potential of Selected microRNAs in Colorectal Cancer: A Literature Review. Cancers (Basel). 2025;17(13):2135.

[Downloaded from pejouhesh.sbmu.ac.ir on 2026-11-18]