

تعیین ژن های کلیدی و مسیرهای پیام رسانی سلولی دخیل در مقاومت بیماران مبتلا به لنفوم سلول B بزرگ منتشر نسبت به درمان ریشه کن سازی هلیکوباکتر پیلوری

تاریخ دریافت مقاله: ۱۴۰۲/۰۴/۰۳؛ تاریخ پذیرش: ۱۴۰۲/۰۶/۰۴

چکیده

محمد معین فرقانی رامندی^۱

آروین نجفی^{۲*}

زمینه و هدف: لنفوم سلول B بزرگ منتشر شایع ترین لنفوم غیر هوچکین مهاجم می باشد. ارتباطی قوی میان عفونت با باکتری هلیکوباکتر پیلوری با بروز این بدخیمی مشاهده شده است. دیده شده برخی از بیمارانی که مبتلا به DLBCL در مراحل ابتدایی هستند پاسخ خوبی به درمان ریشه کنی هلیکوباکتر پیلوری می دهند ولی برخی دیگر نسبت به این درمان مقاومت. با توجه به کمبود اطلاعات کافی راجع به نحوه بروز این مقاومت، لازم است سازوکارهای فعال در بیماران مقاوم شناسایی گردد.

مواد و روش ها: داده های بیان ژنی بیماران حساس و بیماران مقاوم به درمان از سایت GEO دریافت شدند. پس از تعیین ژن های با بیان تغییر یافته، به منظور شناسایی ژن های کلیدی شبکه ارتباطات پروتئینی ساخته شده و ژن های مهم بر اساس شاخص های شبکه ای غربال گردیدند. در نهایت مسیرهای پیام رسانی سلولی مرتبط با ژن های کلیدی مشخص شدند.

یافته ها: ژن های TNF، TLR4، TLR2، IL1B، ICAM1، FN1، EGFR، CXCL8 و VEGFA با توجه به ویژگی های شبکه ای و نتایج به دست آمده از تعیین مسیرهای پیام رسانی سلولی به عنوان ژن های با اهمیت بالا مشخص شدند. ژن های کلیدی ارتباط قابل توجهی با عملکردهای مرتبط با تنظیم فعالیت سلول های ایمنی نشان دادند. **نتیجه گیری:** نتایج به دست آمده از این مطالعه نشان دهنده نقش قابل توجه عملکردهای سلولی مرتبط با گیرنده های سطحی و همچنین تنظیم فعال سازی آنها در بروز مقاومت نسبت به درمان می باشد. ژن ها و مسیرهای سلولی مشخص شده در این مطالعه می توانند به عنوان اهداف ژن درمانی و زیست نشانگرهایی جهت تشخیص، تعیین روش درمانی مناسب برای بیمار و پیش آگهی استفاده گردند.

کلمات کلیدی: لنفوم سلول B بزرگ منتشر، DLBCL، بیوانفورماتیک، هلیکوباکتر پیلوری

۱- دانشجوی رشته پزشکی، کمیته تحقیقات دانشجویی، دانشگاه علوم پزشکی البرز، کرج، ایران
۲- استادیار گروه ارتوپدی، واحد توسعه و تحقیقات بالینی بیمارستان شهید مدنی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی البرز، کرج، ایران

نویسنده مسئول: آروین نجفی

استادیار گروه ارتوپدی، واحد توسعه و تحقیقات بالینی بیمارستان شهید مدنی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی البرز، کرج، ایران

تلفن: +۹۸-۹۱۲۸۵۶۶۳۸

ایمیل: arvin.najafi@gmail.com

مقدمه

لنفوم اولیه معده یا (PML) primary gastric lymphoma عامل ۳۰ تا ۴۰ درصد از لنفوم‌های خارج عقده‌ای می‌باشد. PML^۱ از نظر بافت شناسی به صورت رایج شامل دو زیر گروه عمده لنفوم سلول‌های B حاشیه‌ای در بافت لنفوئیدی مرتبط با مخاط یا mucosa-associated lymphoid tissue (MALT) و لنفوم سلول B بزرگ منتشر یا diffuse large B-cell lymphoma (DLBCL) می‌باشد^۲. در این بین DLBCL نسبت به لنفوم‌های MALT شیوع و مرحله‌بندی (grade) بالاتری دارد، بصورتی که DLBCL شایع‌ترین لنفوم غیر هوچکینی مهاجم به حساب می‌آید^۳ و همچنین درمان این دو نیز با یکدیگر متفاوت است^۴. مطالعات نشان دهنده وجود ارتباط قوی میان عفونت با باکتری هلیکوباکتر پیلوری با بروز هر دو نوع این بدخیمی‌ها می‌باشند^۵.

با توجه به تاثیر فراوان هلیکوباکتر پیلوری در بروز این بیماری‌ها، در بیماران مبتلا به مراحل اولیه لنفوم MALT درمان اولیه ریشه کنی این باکتری می‌باشد^۶. اخیراً در بیمارانی که با DLBCL در مراحل ابتدایی مراجعه می‌نمایند نیز از این درمان استفاده گردیده که نشان دهنده نتایج رضایت بخشی بوده است^۷. با این وجود این درمان بر روی تمامی بیماران DLBCL موثر نیست. با توجه به نبود دانش کافی راجع به نحوه بروز این مقاومت، لازم است سازوکارهای فعال در بیماران مقاوم شناسایی گردد.

تغییر در بیان طبیعی ژن‌های یکی از اختلالات اولیه و مهم سلولی می‌باشد که موجب بروز بیماری و از جمله بدخیمی‌ها می‌گردد. روش میکروآرای امکان اندازه‌گیری بیان هزاران ژن را در زمان و با هزینه بسیار کمتری از روش‌های سنتی فراهم نموده است. با اینحال حجم بالای داده‌های حاصله نیازمند استفاده از ابزارهای مختلف جهت تولید دانش از این اطلاعات می‌باشد. ارزیابی‌های بیوانفورماتیکی ابزارهای متنوعی برای نیل به این هدف در اختیار محققان گذاشته‌اند.

در این مطالعه با استفاده از داده‌های بیان ژنی بیماران مبتلا به DLBCL مقاوم به درمان ریشه کنی هلیکوباکتر پیلوری و بیمارانی که به این درمان پاسخ داده‌اند که بصورت برخط از پایگاه Gene Expression Omnibus یا (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/geo/>) GEO دریافت می‌گردد، به شناسایی ژن‌هایی که در میان این دو گروه دچار تغییر بیان شده‌اند می‌پردازیم. در مرحله بعد با استفاده از شبکه ارتباطات پروتئینی و ارزیابی‌های شبکه‌ای ژن‌های کلیدی را مشخص می‌نماییم. در نهایت

مسیرهای پیام رسانی سلولی احتمالی دخیل در بروز این مقاومت تعیین می‌گردند.

نتایج به دست آمده از این مطالعه می‌تواند سبب تعیین ژن‌ها و مسیرهای پیام رسانی سلولی کلیدی موثر در بروز مقاومت بیماران مبتلا به DLBCL به درمان ریشه کنی هلیکوباکتر پیلوری گردد. این اطلاعات می‌تواند ما را در شناسایی افراد مبتلا به نوع مقاوم جهت استفاده از درمان‌های دیگر یاری نماید و همچنین موجب ابداع درمان‌های جدید و شخصی سازی شده از طریق هدف قرار دادن ژن‌های اصلی گردد.

مواد و روش‌ها

دریافت و ارزیابی اطلاعات

سری داده‌های GSE182362 (بر اساس GPL1707) از پایگاه داده Gene Expression Omnibus (GEO) دریافت شد. داده‌ها حاصل استخراج RNA از نمونه‌های بافتی افراد در زمان تشخیص بیماری می‌باشند^۸ که شامل هشت بیمار مقاوم و هشت بیمار با پاسخ دهی مطلوب به درمان ریشه کنی بوده و حاوی اطلاعات بیانی ۵۰۵۹۹ هستند.

به منظور نرمال سازی و پاک سازی داده‌ها از موارد تکراری، ناقص، حذف شده و پرت از زبان برنامه نویسی R استفاده شد. برای نرمال سازی داده‌ها، ابتدا از تغییر لگاریتمی استفاده گردید و سپس، با استفاده از دستور "normalizeBetweenArrays" متعلق به بسته (پکیج) "limma" داده‌ها نرمال شدند. در مرحله بعد ژن‌های با بیان تغییر یافته با استفاده از پکیج "limma" میان دو گروه مشخص گردیدند. آستانه قدر مطلق log fold change (logFC) یا همان لگاریتم میزان تفاوت بیان ژن‌ها، عدد ۱ و مقدار عدد P نیز، کمتر از ۰/۰۵ در نظر گرفته شده است.

با هدف مصورسازی ابتدایی، صد ژن اول با کمترین واریانس بیانی، در قالب نقشه گرمایی (heatmap) با استفاده از دستور "pheatmap" متعلق به بسته "pheatmap" به نمایش درآمدند.

ساخت شبکه ارتباطات پروتئینی و ارزیابی‌های شبکه‌ای جهت تعیین ژن‌های کلیدی

پایگاه اطلاعاتی برخط "Search Tool for the Retrieval of Interacting Genes/Proteins" (STRING) با آدرس <http://string-db.org/> جهت ایجاد شبکه ارتباطات پروتئینی میان ژن‌هایی که دچار تغییر بیان شده بودند استفاده گردید. سپس، با هدف شناسایی ژن‌های کلیدی یا hub genes، از نرم افزار "Cytoscape" ورژن ۳/۹ جهت

ایجاد و ارزیابی‌های شبکه ارتباطی پروتئینی جهت تعیین ژن‌های کلیدی

شبکه کامل ارتباطات پروتئینی ژن‌های با بیان تغییر یافته و همچنین زیر-شبکه حاوی ژن‌های کلیدی حاصل از ارزیابی شبکه‌ای در شکل ۴ به نمایش درآمده‌اند. تعداد ارتباطات هر یک از ژن‌ها با سایر ژن‌های شبکه یا همان degree که یکی از مهم‌ترین شاخص‌های مرکزیت شبکه‌ای می‌باشد با استفاده از سایز و رنگ ژن‌ها به نمایش گذاشته شده‌اند، به طوری که رنگ قرمز و اندازه بزرگ‌تر حاکی از بیشتر بودن تعداد ارتباطات می‌باشند. تعداد ژن‌های حاضر در شبکه اولیه ۱۴۲۷ و تعداد ارتباطات ۲۵۷۴۵ عدد بوده که پس از ارزیابی‌های شبکه‌ای به ۱۵۰ ژن و ۵۹۹۴ ارتباط کاهش یافت.

تعیین مسیرهای پیام‌رسانی سلولی مرتبط ژن‌های کلیدی

در شکل ۵ مسیرهای پیام‌رسانی سلولی مرتبط با ژن‌های کلیدی، بر اساس نتایج KEGG Human، GO Molecular Function، GO Cellular Component و GO Biological Process نشان داده شده‌اند. نتایج ارزیابی ژن‌ها بر اساس KEGG Human بیانگر درگیری مسیرهای پیام‌رسانی سلولی مرتبط با بروز سرطان و مسیرهای دخیل در ایمنی می‌باشند، ده مسیر اول با کمترین P value شامل Lipid and atherosclerosis، Rheumatoid arthritis، Cytokine-cytokine receptor interaction، Pathways in cancer، Viral protein interaction with cytokine and cytokine receptor، Leukocyte transendothelial migration، Chemokine signalling pathway، AGE-RAGE signaling pathway in diabetic complications، Proteoglycans in cancer و Osteoclast differentiation می‌باشند. نتایج ارزیابی ژن‌ها بر اساس GO Molecular Function حاکی از درگیری عملکردهای سلولی مرتبط با گیرنده‌های سطح سلولی مخصوصاً گیرنده‌های دخیل در تنظیم سایتوکاین‌ها هستند، ده نتیجه اول با کمترین P value شامل Lipid cell adhesion molecule binding (GO:0050839)، cytokine receptor binding (GO:0005126)، glycoprotein binding (GO:0001948)، cytokine receptor activity (GO:0004896)، cytokine activity (GO:0005125)، chemokine receptor binding (GO:0042379)، chemokine activity (GO:0008009)، protein tyrosine kinase activity (GO:0004713)، CCR chemokine receptor binding (GO:0048020) و kinase binding (GO:0019900) می‌باشند.

ارزیابی‌های شبکه‌ای با استفاده از شاخص‌های درجه (degree)، معیار بینایی (betweenness) و معیار نزدیکی (closeness) استفاده شد. در نهایت ژن‌های واجد بیشترین مقدار از شاخص‌های مرکزیت به عنوان زیر-شبکه غربال شدند.

به منظور به نمایش در آوردن ارتباطات پروتئینی موجود در شبکه اولیه و زیر-شبکه نهایی، نرم افزار "Gephi" ورژن 0.9.2 مورد استفاده قرار گرفت.

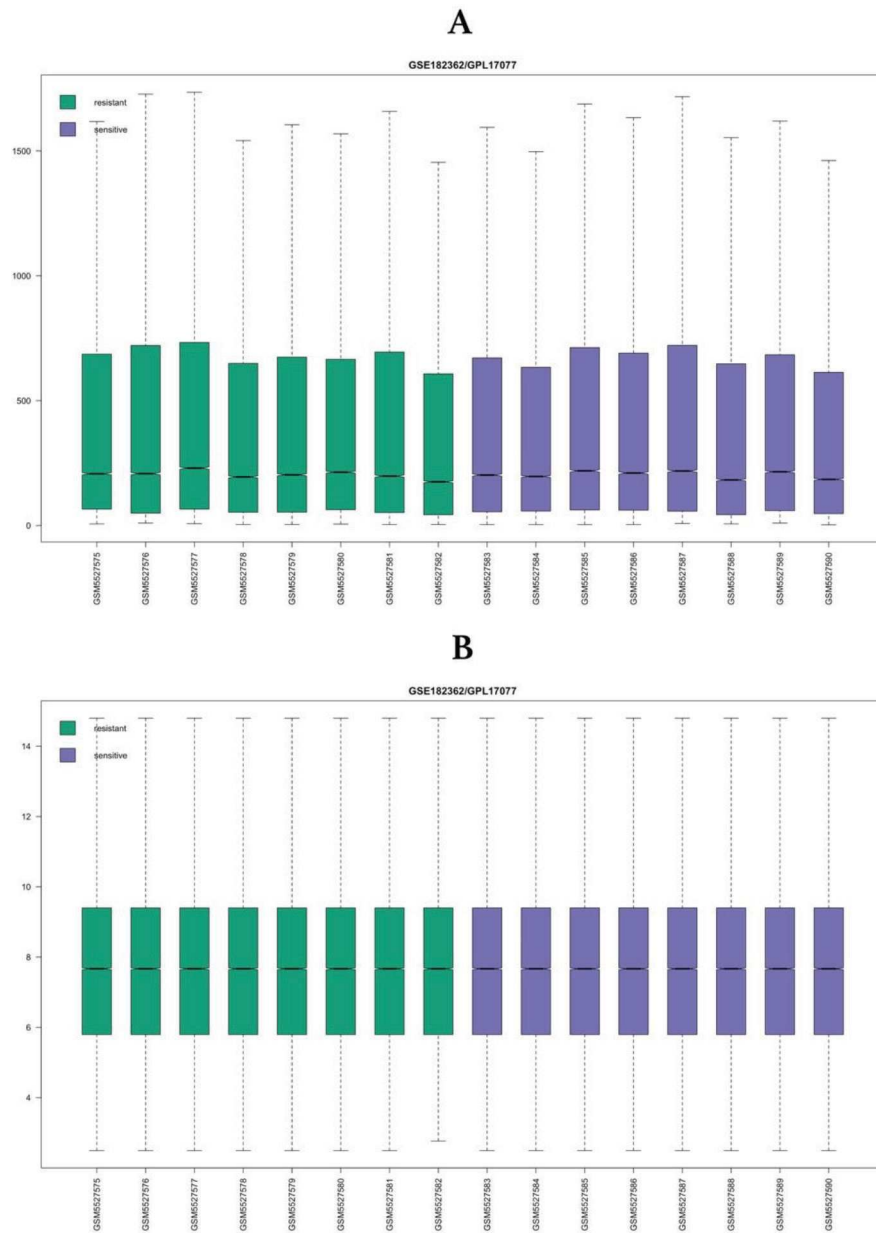
تعیین مسیرهای پیام‌رسانی سلولی متأثر از ژن‌های کلیدی

در مرحله آخر به منظور شناسایی مسیرهای پیام‌رسانی سلولی متأثر از ژن‌های کلیدی، از پایگاه اطلاعاتی "maayanlab" (<https://maayanlab.cloud/Enrichr>) استفاده شد. زبان برنامه نویسی R و بسته "enrichR"، جهت اجرای تحلیل غنی‌سازی "Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes" (KEGG) و هستی‌شناسی ژن یا gene ontology (GO) مورد استفاده قرار گرفتند.

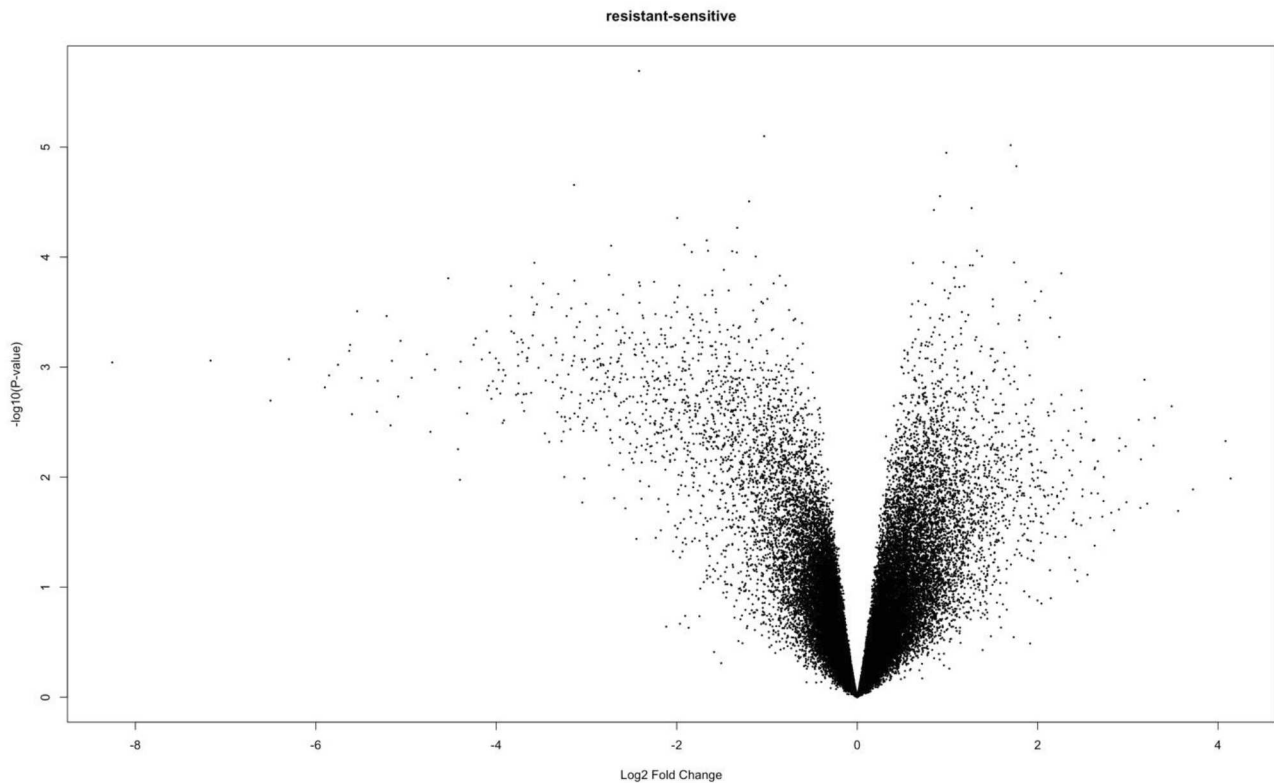
یافته‌ها

دریافت اطلاعات و تعیین ژن‌های با بیان تغییر یافته

اجرای مراحل پیش پردازشی شامل پاک‌سازی داده‌ها، موجب کاهش تعداد ژن‌ها از ۵۰۵۹۹ به ۳۲۰۸۰ ژن گردید. نمودارهای جعبه‌ای نمونه‌ها، پیش و پس از نرمال‌سازی در شکل ۱ به نمایش درآمده‌اند. تعداد ژن‌های با بیان تغییر یافته در برابر با ۱۷۸۴ مورد شامل ۸۱۴ ژن با بیان افزایش یافته و ۹۷۰ ژن با بیان کاهش یافته در بیماران مبتلا به نوع مقاوم در مقایسه با نوع حساس بوده است. ژن‌های GKN1، GKN2، AKR1B10، CAPN8 و ANXA10 به ترتیب با logFCهای ۵/۸۹، ۶/۵۰، ۷/۱۶، ۸/۲۵، ۵/۸۹ و ۵/۸۵- بیشترین کاهش بیان و ژن‌های IL8، G0S2، S100A8، BCL2A1 و CAMP به ترتیب با logFCهای ۴/۱۳، ۳/۷۲، ۵۵/۴، ۳ و ۳/۴۸ بیشترین افزایش بیان را در بیماران مبتلا به نوع مقاوم نشان داده‌اند. نمودار آتشفشانی (volcano plot) بیان ژن‌ها که حاوی اطلاعات مقایسه‌ای لگاریتم میزان تغییر بیان ژن‌ها با لگاریتم عدد P آنها می‌باشد در شکل ۲ به نمایش درآمده است. نقشه گرمایی صد ژن اول با کمترین واریانس در شکل ۳ به تصویر کشیده شده است. در این شکل ژن‌ها بر اساس طبقه‌بندی انجام شده مرتب شده‌اند، همچنین رنگ قرمز نماینده بیان بالاتر و رنگ سبز نماینده بیان پایین‌تر می‌باشد.



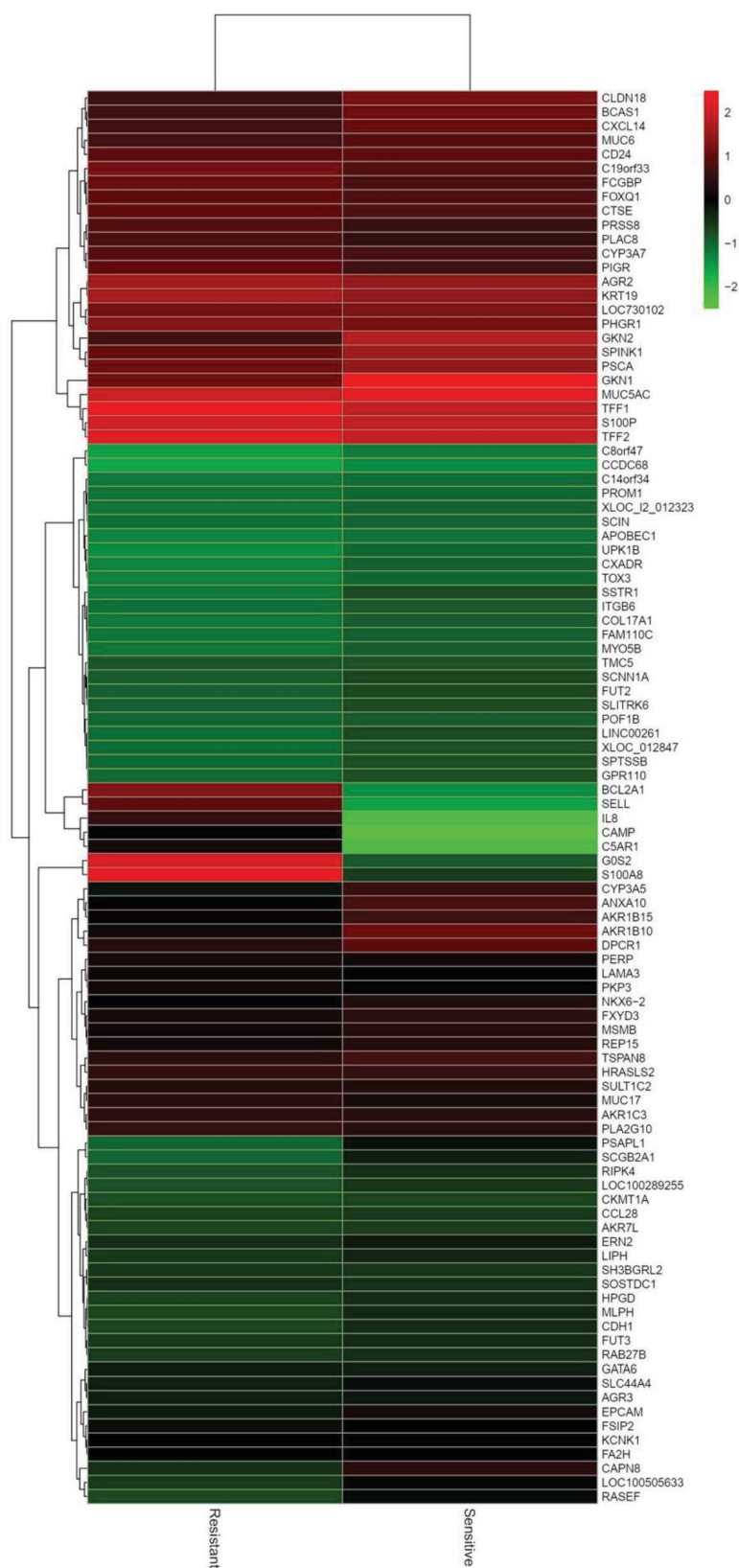
شکل ۱- نمودار جعبه‌ای نمونه‌ها قبل و بعد از انجام نرمال‌سازی. (A) نمودار جعبه‌ای قبل از نرمال‌سازی، (B) نمودار جعبه‌ای پس از نرمال‌سازی.



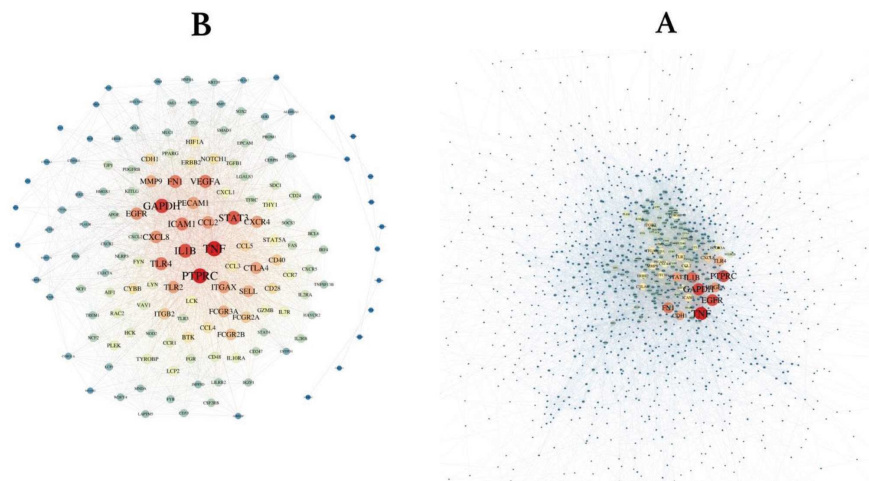
شکل ۲- نمودار آتشفشانی ژن‌ها. نمایانگر لگاریتم میزان تغییر بیان ژن‌ها در مقایسه با P value آن می‌باشد.

درگیری عملکردهای مرتبط با فعال‌سازی سلول‌های ایمنی هستند، ده نتیجه اول با کمترین P value شامل regulation of cell activation (GO:0050865)، leukocyte migration (GO:0050900)، positive regulation of cell activation (GO:0050867)، regulation of leukocyte activation (GO:0002694)، regulation of lymphocyte activation (GO:0051249)، positive regulation of leukocyte activation (GO:0002696)، positive regulation of lymphocyte activation (GO:0051251)، leukocyte activation (GO:0045321)، regulation of T cell و (inflammatory response (GO:0006954 activation (GO:0050863) می‌باشند. (ضمیمه شماره ۱)

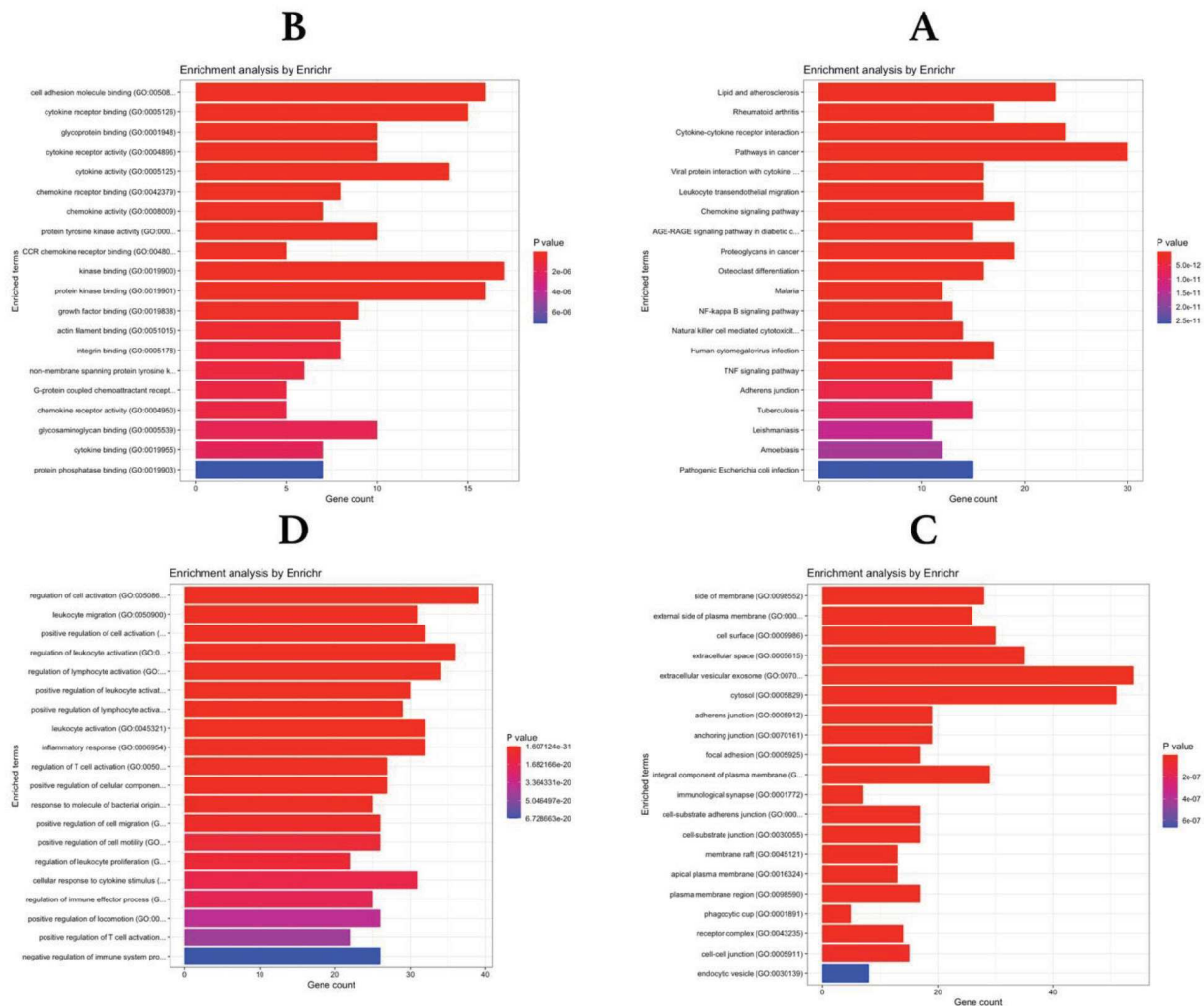
نتایج ارزیابی ژن‌ها بر اساس GO Cellular Component نیز نشان دهنده درگیری اعضای سلولی مرتبط غشاء سطحی سلول‌ها هستند، ده نتیجه اول با کمترین P value شامل side of membrane (GO:0098552)، external side of plasma membrane (GO:0009897)، cell surface (GO:0009986)، extracellular space (GO:0005615)، extracellular vesicular exosome (GO:0070062)، cytosol (GO:0005829)، adherens junction (GO:0005912)، anchoring junction (GO:0070161)، focal adhesion (GO:0005925) و (integral component of plasma membrane (GO:0005887 می‌باشند. نتایج ارزیابی ژن‌ها بر اساس GO Biological Process بیانگر



شکل ۳- نقشه گرمایی ۱۰۰ ژن اول با کمترین واریانس بیانی در میان دو گروه



شکل ۴- شبکه ارتباطات پروتئینی. (A) شبکه کامل ارتباطات پروتئینی ژن‌های با بیان تغییر یافته و (B) زیر-شبکه حاصل پس از اعمال ارزیابی‌های شبکه‌ای



شکل ۵- مسیرهای پیام‌رسانی سلولی مرتبط با ژن‌ها بر اساس نتایج (A) KEGG Human، (B) GO Molecular Function، (C) GO Cellular Component و (D) GO Biological Process

بحث

در مطالعه حاضر الگوی بیان ژنی بیماران مبتلا به DLBCL مقاوم به درمان ریشه کنی هلیکوباکتر پیلوری با افراد حساس به این درمان با هدف شناسایی ژن‌ها و مسیرهای پیام‌رسانی سلولی دخیل در بروز مقاومت مقایسه شدند. بر اساس نتایج به دست آمده، ژن‌های CXCL8، EGFR، TNF، TLR4، TLR2، IL1B، ICAM1، FN1 و VEGFA با توجه به ویژگی‌های شبکه‌ای و نتایج به دست آمده از تعیین مسیرهای پیام‌رسانی سلولی به عنوان ژن‌های با اهمیت بالا مشخص شدند. ژن‌های کلیدی موجود در زیر-شبکه، ارتباط قابل ملاحظه‌ای با گیرنده‌های سطحی سلول‌های ایمنی و در نتیجه مسیرهای پیام‌رسانی سلولی مرتبط با فعال‌سازی آنها و همچنین تولید سایتوکاین‌ها، مهاجرت سلولی و مسیرهای پیام‌رسانی سلولی مرتبط با بروز بدخیمی‌ها دارند.

تولید سایتوکاین توسط سلول‌های سرطانی نه تنها موجب تکثیر این سلول‌های می‌گردد، بلکه باعث ایجاد و حفظ محیطی مناسب نیز می‌شود.^{۸۹} برای مثال، در مطالعه Lloyd T Lam و همکاران در سال ۲۰۰۸، افزایش بیان ژنی Interleukin-6 (IL6) و Interleukin-10 (IL10) در سلول‌های DLBCL مشاهده گردیده است IL-6^{۱۰} که به عنوان سایتوکاین به دست آمده از سلول T نیز شناخته می‌شود، موجب تکامل سلول‌های B به سلول پلاسمایی می‌گردد IL-10^{۱۱} نیز که به عنوان محصولی از سلول‌های T کمکی معروف است، تکثیر سلول‌های طبیعی B را شدت می‌بخشد.^{۱۲} سطوح پلاسمایی و میزان تولید این سایتوکاین‌ها توسط سلول‌های سرطانی، با یکدیگر بسیار مرتبط هستند.^{۱۳} در مطالعات متعددی ارتباط میان سطوح بالای پلاسمایی IL-6 و IL-10 با پیش‌آگهی ضعیف بیماران گزارش شده است.^{۱۴-۱۶}

Huang و همکاران در مطالعه انجام شده در سال ۲۰۲۱، با هدف تعیین علل بروز مقاومت نسبت به درمان ریشه کنی هلیکوباکتر پیلوری در میان بیماران مبتلا به DLBCL، miR-155 (microRNA-155) را به عنوان مارکر اصلی بیماران مقاوم معرفی نمودند.^۷ میکرو RNAها، RNAهای کوچکی هستند که خود حاوی اطلاعات لازم جهت ساخت پروتئین‌ها نمی‌باشند (non-protein-coding) با اینحال نقش‌های مهمی در تنظیم بیان سایر ژن‌ها دارند miR-155.^{۱۷} تنظیم‌کننده مهاجرت سلولی و تولید سایتوکاین‌ها در لنفوم سلول B بزرگ منتشر می‌باشد.^{۱۸} در مطالعه انجام شده در سال ۲۰۲۱ توسط Fangazio و همکاران،

کاهش ساخت پروتئین‌های مجموعه سازگاری بافتی اصلی یا major histocompatibility (MHC) کلاس ۱ که در پنجاه درصد بیماران مشاهده شده است به عنوان رایج‌ترین روش فرار از دستگاه ایمنی معرفی گردید.^{۱۹} پپتیدهای داخلی و خارجی مانند آنتی ژن‌های ویروسی و آنتی ژن‌های مرتبط با بدخیمی‌ها توسط MHCها بر روی سطح سلول ارائه می‌گردند. در نتیجه لنفوسیت‌های T کشته شده یا cytotoxic T lymphocytes (CTL) به دنبال تماس با این آنتی ژن‌های از طریق گیرنده‌های سلول T (TCR) فعال شده و سلول‌های هدف را از میان می‌برند.^{۲۰} در نتیجه MHCها برای فعالیت طبیعی CTLها و از بین بردن سلول‌های سرطانی حیاتی می‌باشند و کاهش بیان این ژن‌ها موجب فرار ایمنی می‌گردد.

فعال شدن مسیر سلولی ریسپتور سلول B / فاکتور هسته‌ای κB یا B-cell receptor / NF-κB (BCR) یکی از ویژگی‌های اصلی در لنفوم‌های غیر هوجکینی سلول B، مخصوصاً لنفوم سلول B بزرگ منتشر می‌باشد.^{۲۱} مسیر پیام‌رسانی سلولی ریسپتور سلول B نقش‌هایی حیاتی در رشد، تکامل و بقای سلول‌های B طبیعی و درصد بالایی از سلول‌های B بدخیم دارد. مطالعات متعددی، بروز اختلالات ژنتیکی در اعضای اصلی این مسیر پیام‌رسانی سلولی و همچنین مسیرهای متاثر از آن را در برخی از زیر گروه‌های لنفوم سلول B بزرگ منتشر شناسایی نموده اند.^{۲۲} بنابراین مسیرهای پیام‌رسانی سلولی NF-κB و فسفاتیدیل اینوزیتول ۳-کیناز یا phosphatidylinositol 3-kinase (PI3K) به عنوان هدف‌های درمانی این بیماران انتخاب شده اند.^{۲۳}

نتایج به دست آمده از این مطالعه نشان دهنده برجسته بودن تاثیر اختلال مسیرهای پیام‌رسانی سلولی مرتبط با گیرنده‌های سطحی سلول‌های ایمنی و همچنین تنظیم فعال‌سازی آنها در بروز مقاومت نسبت به درمان ریشه کن‌سازی هلیکوباکتر پیلوری می‌باشد. این نتایج با سایر مطالعات انجام شده در این زمینه نیز همسو می‌باشند. بنابراین بررسی‌های بیشتر جهت ارزیابی این فرضیه می‌تواند منجر به شناسایی ژن‌های کلیدی قابل استفاده به عنوان هدف‌های درمانی و زیست نشانگرهای تشخیصی، تعیین روش درمانی مناسب برای بیمار و پیش‌آگهی گردد.

References

- Ghimire P, Wu GY, Zhu L. Primary gastrointestinal lymphoma. *World J Gastroenterol*. Feb 14 2011;17(6):697-707. doi:10.3748/wjg.v17.i6.697
- Wang YG, Zhao LY, Liu CQ, et al. Clinical characteristics and prognostic factors of primary gastric lymphoma: A retrospective study with 165 cases. *Medicine (Baltimore)*. Aug 2016;95(31):e4250. doi:10.1097/md.0000000000004250
- Swerdlow SH, Campo E, Pileri SA, et al. The 2016 revision of the World Health Organization classification of lymphoid neoplasms. *Blood*. May 19 2016;127(20):2375-90. doi:10.1182/blood-2016-01-643569
- Violeta Filip P, Cuciureanu D, Sorina Diaconu L, Maria Vladareanu A, Silvia Pop C. MALT lymphoma: epidemiology, clinical diagnosis and treatment. *J Med Life*. Jul-Sep 2018;11(3):187-193. doi:10.25122/jml-2018-0035
- Mulalic E, Delibegovic S. An Aggressive Form of MALT Lymphoma of the Stomach with Pancreas Infiltration. *Med Arch*. Jun 2016;70(3):235-7. doi:10.5455/medarh.2016.70.235-237
- Kuo SH, Yeh KH, Wu MS, et al. Helicobacter pylori eradication therapy is effective in the treatment of early-stage H pylori-positive gastric diffuse large B-cell lymphomas. *Blood*. May 24 2012;119(21):4838-44; quiz 5057. doi:10.1182/blood-2012-01-404194
- Huang WT, Kuo SH, Kuo YC, Lin CW. miR-155-regulated mTOR and Toll-like receptor 5 in gastric diffuse large B-cell lymphoma. *Cancer Med*. Feb 2022;11(3):555-570. doi:10.1002/cam4.4466
- Takahara T, Nakamura S, Tsuzuki T, Satou A. The Immunology of DLBCL. *Cancers (Basel)*. Jan 29 2023;15(3)doi:10.3390/cancers15030835
- de Jong D, Enblad G. Inflammatory cells and immune microenvironment in malignant lymphoma. *J Intern Med*. Dec 2008;264(6):528-36. doi:10.1111/j.1365-2796.2008.02032.x
- Lam LT, Wright G, Davis RE, et al. Cooperative signaling through the signal transducer and activator of transcription 3 and nuclear factor- κ B pathways in subtypes of diffuse large B-cell lymphoma. *Blood*. Apr 1 2008;111(7):3701-13. doi:10.1182/blood-2007-09-111948
- Hirano T, Yasukawa K, Harada H, et al. Complementary DNA for a novel human interleukin (BSF-2) that induces B lymphocytes to produce immunoglobulin. *Nature*. Nov 6-12 1986;324(6092):73-6. doi:10.1038/324073a0
- Rousset F, Garcia E, Defrance T, et al. Interleukin 10 is a potent growth and differentiation factor for activated human B lymphocytes. *Proc Natl Acad Sci U S A*. Mar 1 1992;89(5):1890-3. doi:10.1073/pnas.89.5.1890
- Voorzanger N, Touitou R, Garcia E, et al. Interleukin (IL)-10 and IL-6 are produced in vivo by non-Hodgkin's lymphoma cells and act as cooperative growth factors. *Cancer Res*. Dec 1 1996;56(23):5499-505.
- Blay JY, Burdin N, Rousset F, et al. Serum interleukin-10 in non-Hodgkin's lymphoma: a prognostic factor. *Blood*. Oct 1 1993;82(7):2169-74.
- Gupta M, Han JJ, Stenson M, et al. Elevated serum IL-10 levels in diffuse large B-cell lymphoma: a mechanism of aberrant JAK2 activation. *Blood*. Mar 22 2012;119(12):2844-53. doi:10.1182/blood-2011-10-388538
- Giachelia M, Voso MT, Tisi MC, et al. Interleukin-6 plasma levels are modulated by a polymorphism in the NF- κ B1 gene and are associated with outcome following rituximab-combined chemotherapy in diffuse large B-cell non-Hodgkin lymphoma. *Leuk Lymphoma*. Mar 2012;53(3):411-6. doi:10.3109/10428194.2011.621566
- Budakoti M, Panwar AS, Molpa D, et al. Micro-RNA: The darkhorse of cancer. *Cell Signal*. Jul 2021;83:109995. doi:10.1016/j.cellsig.2021.109995
- Jabłońska E, Białopiotrowicz E, Szydłowski M,

- Prochorec-Sobieszek M, Juszczynski P, Szumera-Ciećkiewicz A. DEPTOR is a microRNA-155 target regulating migration and cytokine production in diffuse large B-cell lymphoma cells. *Exp Hematol*. Aug 2020;88:56-67.e2. doi:10.1016/j.exphem.2020.07.005
19. Fangazio M, Ladewig E, Gomez K, et al. Genetic mechanisms of HLA-I loss and immune escape in diffuse large B cell lymphoma. *Proc Natl Acad Sci U S A*. Jun 1 2021;118(22)doi:10.1073/pnas.2104504118
20. Raskov H, Orhan A, Christensen JP, Gögenur I. Cytotoxic CD8(+) T cells in cancer and cancer immunotherapy. *Br J Cancer*. Jan 2021;124(2):359-367. doi:10.1038/s41416-020-01048-4
21. Reimann M, Schrezenmeier J, Richter-Pechanska P, et al. Adaptive T-cell immunity controls senescence-prone MyD88- or CARD11-mutant B-cell lymphomas. *Blood*. May 20 2021;137(20):2785-2799. doi:10.1182/blood.2020005244
22. Xu W, Berning P, Lenz G. Targeting B-cell receptor and PI3K signaling in diffuse large B-cell lymphoma. *Blood*. Sep 30 2021;138(13):1110-1119. doi:10.1182/blood.2020006784
23. Davis RE, Ngo VN, Lenz G, et al. Chronic active B-cell-receptor signalling in diffuse large B-cell lymphoma. *Nature*. Jan 7 2010;463(7277):88-92. doi:10.1038/nature08638

Determination of key genes and cellular signaling pathways involved in the resistance of patients with diffuse large B-cell lymphoma to Helicobacter pylori eradication treatment

Received: 24 Jun 2023; Accepted: 28 Aug. 2023

Mohammad-Moien Forghani-Ramandi¹,
Arvin Najafi²

1- Student Research Committee, School
of Medicine, Alborz University of
Medical Sciences, Karaj, Iran

2- Assistant Professor of Orthopedics,
School of Medicine, Clinical Research
Development Unit, Shahid Madani
Hospital, Alborz University of Medical
Sciences, Karaj, Iran

Corresponding author:
Arvin Najafi
Assistant Professor of Orthopedics,
School of Medicine, Clinical Research
Development Unit, Shahid Madani
Hospital, Alborz University of Medical
Sciences, Karaj, Iran
Phone: +98-912-8566268
Email: arvin.najafi@gmail.com

Abstract

Background: Diffuse large B-cell lymphoma is the most common invasive non-Hodgkin's lymphoma. There is a strong relationship between Helicobacter pylori infection and the occurrence of this malignancy. It has been seen that some patients with DLBCL in the early stages respond well to Helicobacter pylori eradication treatment, but others are resistant to it. Due to the lack of sufficient knowledge about the occurrence of this resistance, it is necessary to identify mechanisms of resistance.

Methods: The gene expression data of sensitive and resistant patients were obtained from GEO site. After determining the genes with altered expression, in order to identify the key genes, the protein interaction network was constructed and the important genes were filtered based on the network centrality indices. Finally, cellular signaling pathways associated with key genes were determined.

Results: CXCL8, EGFR, FN1, ICAM1, IL1B, TLR2, TLR4, TNF and VEGFA genes were identified as highly important genes according to the network analysis and the results obtained from the pathway enrichment analysis. Key genes showed a significant relationship with functions related to the regulation of immune cells activation.

Conclusion: The results obtained from this study show the significant role of cell functions related to surface receptors and also the regulation of immune cells activation in the occurrence of resistance to treatment. The genes and cellular pathways identified in this study can be used as therapeutic targets and biomarkers for diagnosis, determination of the appropriate treatment method for the patients and prognosis.

Keywords: Diffuse large B-cell lymphoma, DLBCL, Bioinformatics, Helicobacter pylori