

بررسی بیان واریانت پیرایشی Survivin-2 α به عنوان مارکر مولکولی

در تومورهای تیروئیدی

کیهانہ کیانی^۱، محمد علی حسین پور فیضی^۲، اسماعیل بابایی^۳، وحید منتظری^۴، منیره حلیمی^۵

۱- مربی، گروه ژنتیک، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد نجف آباد، نجف آباد، ایران

۲- استاد، گروه رادیوبیولوژی، دانشگاه تبریز، تبریز، ایران (مؤلف مسؤول) تلفن تماس: ۰۴۱۱-۳۳۶۲۲۸۰ pourfeizi@eastp.ir

۳- دانشجوی دکتری ژنتیک مولکولی، دانشگاه تربیت مدرس، تهران، ایران

۴- دانشیار گروه جراحی، دانشگاه علوم پزشکی تبریز، تبریز، ایران

۵- دانشیار گروه پاتولوژی، دانشگاه علوم پزشکی تبریز، تبریز، ایران

چکیده

زمینه و هدف: سرطان تیروئید شایع ترین بدخیمی غدد درون ریز می باشد. به دلیل ناهمگونی بالای ندول های توموری و غیرتوموری تیروئید از نظر ویژگی های آسیب شناسی و فقدان مارکرهای مولکولی مناسب، تلاش های گسترده ای برای معرفی یک مارکر مولکولی جهت تشخیص این ضایعات توموری در حال انجام است. Survivin عضو جدیدی از خانواده ی پروتئین های مهارکننده مرگ برنامه ریزی شده سلولی می باشد که در بررسی های اخیر بر روی سرطان به عنوان یک مارکر مولکولی جدید مورد توجه قرار گرفته است. مطالعات، بیان متمایز Survivin و واریانت پیرایشی آن را در سلول های سرطانی در مقایسه با سلول های بالغ نرمال نشان می دهند. در این تحقیق بیان واریانت پیرایشی Survivin-2 α ، از جدیدترین انواع واریانت های Survivin به عنوان مارکر مولکولی در تومورهای تیروئید مورد بررسی قرار گرفته است.

روش بررسی: ۷۷ نمونه بافتی تیروئید شامل ۴۹ نمونه توموری، ۱۴ نمونه غیرتوموری و ۱۴ نمونه حاشیه تومور جمع آوری و بیان این واریانت توسط روش Hemi-Nested RT-PCR بررسی شد.

یافته ها: بررسی ها نشان داد که میزان بیان واریانت پیرایشی Survivin-2 α ، در گروه حاشیه تومور نسبت به گروه غیرتوموری و توموری افزایش می یابد و کمترین میزان بیان در گروه توموری مشاهده می شود.

نتیجه گیری: این نتایج برای اولین بار بیان 2 α در این سلول ها را تایید می نماید، هرچند بیان واریانت 2 α در سلول های توموری نسبت به حاشیه تومور کاهش نشان داده است، اما این اختلاف چشمگیر نیست، بنابراین ظاهراً در پیشروی تومور و طبیعت غیرطبیعی سلول ها دخالت نمی کند. در کل می توان چنین بیان نمود که اختلاف در میزان بیان واریانت 2 α در گروه های مختلف مورد بررسی نمی تواند ملاک مناسبی جهت تمایز بیماری های توموری از انواع غیرتوموری محسوب شود.

کلید واژه ها: سرطان تیروئید، Survivin-2 α ، واریانت پیرایشی، Hemi-Nested RT-PCR

وصول مقاله: ۸۸/۳/۱۶ اصلاح نهایی: ۸۸/۶/۱ پذیرش مقاله: ۸۸/۸/۵

مقدمه

سرطان تیروئید شایع ترین بدخیمی غدد درون ریز است و اصلی ترین علت مرگ اینگونه بیماری ها محسوب می گردد (۱،۲). احتمال ابتلا به این سرطان در زنان سه برابر مردان است. بیشترین میزان شیوع آن در زنان بین ۴۵ تا ۵۵ سال و مردان ۵۵ تا ۶۵ سال می باشد (۳). ساده ترین راه تشخیص ندول های سرطان تیروئید

استفاده از روش بیوپسی سوزنی می‌باشد که از هر ۲۰ تست تنها یک مورد ندول سرطانی را نشان می‌دهد و نتایج باقیمانده تحت عنوان بیماری مشکوک طبقه‌بندی می‌شوند. تست‌های تصویری مانند اسکن تیروئید و سونوگرافی نیز در بیشتر موارد قادر به تفکیک ندول‌های تیروئیدی نمی‌باشند (۴,۵). ناهمگونی بالای تومورهای تیروئیدی از لحاظ ویژگی‌های آسیب‌شناسی - بالینی به همراه کمبود مارکرهای مولکولی اختصاصی، تشخیص ندول‌های توموری از انواع غیرتوموری تیروئید را با مشکل مواجه ساخته است. بنابراین در سال‌های اخیر تلاش‌های گسترده‌ای به منظور معرفی یک مارکر مولکولی که بتواند ماهیت تومورهای تیروئیدی را پیش‌بینی کرده و به عنوان یک عامل کمکی تشخیصی و پیش‌آگهی در کنار سایر روش‌ها به کار برده شود در حال انجام است (۶,۷). با توجه به این که مرگ برنامه‌ریزی شده سلولی یکی از مکانیسم‌های دفاعی سلول‌ها در برابر سرطانی شدن می‌باشد بنابراین مهارکنندگان آن به عنوان مارکر مولکولی مهم و مؤثر در بروز و پیشروی سرطان مورد توجه قرار گرفته‌اند. Survivin عضو جدیدی از خانواده پروتئین‌های مهارکننده مرگ برنامه‌ریزی شده سلولی می‌باشد که به دلیل نقش دوگانه آن در مرگ سلولی و پیشبرد چرخه سلولی توجه بسیاری از محققان را به خود جلب نموده است. این ژن به میزان زیادی در بافت‌های جنینی بیان می‌شود، در حالی که بیان آن در بافت‌های بالغ طبیعی ناچیز بوده و قابل ردیابی نمی‌باشد (۸). همچنین بیان این ژن برای تومور بسیار اختصاصی بوده و به عنوان چهارمین ترانسکریپتوم بیان شونده در سلول‌های توموری

معرفی شده است (۹,۱۰). ژن Survivin، واقع بر روی کروموزوم شماره ۱۷q۲۵، در اثر فرآیند پردازش hnRNA چندین واریانت تولید می‌کند که تا به حال واریانت‌های $\Delta Ex3$ ، 2b، 3b و 2a در مطالعات مختلف شناسایی و گزارش شده است (۱۱). بیان متمایز Survivin و واریانت‌های پیرایشی آن در سلول‌های سرطانی در مقایسه با انواع طبیعی باعث شده است تا به عنوان مارکر تشخیصی در سرطان مطرح شوند (۱۲,۱۳). در تحقیق حاضر بیان واریانت پیرایشی جدید Survivin-2a به عنوان عامل بالقوه مؤثر در بروز و پیشروی سرطان تیروئید مورد ارزیابی قرار گرفته است.

روش بررسی

نمونه‌گیری: نمونه‌های مورد نظر از بیماران تحت عمل جراحی در بیمارستان امام خمینی (ره) تبریز، زیر نظر پزشک فوق تخصص جراحی توراکس و با رضایت کامل آنها جمع‌آوری شدند و پس از قرار دادن در تیوب‌های عاری از RNase بلافاصله به نیتروژن مایع منتقل گردیدند. در مجموع ۷۷ نمونه بافت تیروئیدی تحت نظارت متخصص پاتولوژی در سه گروه طبقه‌بندی شدند. این گروه‌ها شامل ۴۹ نمونه توموری، ۱۴ نمونه غیرتوموری و ۱۴ نمونه حاشیه تومور می‌باشند. نمونه‌های غیرتوموری شامل آن بیمارانی است که به دلیل وجود ضایعات غیرتوموری تیروئید از جمله گواتر تحت عمل جراحی قرار گرفته بودند، انواع حاشیه تومور نیز از بافت‌های کنار غدد توموری گروه اول جمع‌آوری گردیدند. مشخصات و ویژگی‌های پاتولوژیکی بیماران مورد مطالعه در جدول ۱ درج شده است.

جدول ۱: مشخصات بیمارانی که از آنها نمونه‌های توموری جمع آوری شده است.

نمونه	سن / جنسیت	یافته‌های پاتولوژیکی	RT-PCR Survivin- 2α	تومور بدخیم
۱	M/۵۹	سلول‌های نئوپلاستیک دو کی شکل با سیتوپلاسم اندک، تهاجم پری- نورال	+	+
۲	F/۵۵	-	-	+
۳	F/۲۴	سلول‌های نئوپلاستیک با ظاهر زمینه روشن، شیارهای هسته‌ای هم پوشان در فرم پاپیلا، درگیری غدد لنفاوی	-	+
۴	F/۲۸	-	-	+
۵	F/۲۰	-	-	+
۶	F/۳۴	-	-	+
۷	F/۲۷	سلول‌های نئوپلاستیک با هسته زمینه روشن و واجد شیار، بعضی واجد ساختارهای پاپیلاری، تهاجم به بافت‌های چربی فیبردار، تهاجم به عروق	-	+
۸	F/۶۵	-	-	+
۹	F/۵۱	-	+	+
۱۰	F/۴۹	-	+	+
۱۱	F/۶۷	-	+	+
۱۲	F/۳۴	-	+	+
۱۳	F/۱۴	-	-	+
۱۴	F/۱۵	-	+	+
۱۵	F/۳۹	-	+	+
۱۶	F/۵۴	-	+	+
۱۷	F/۴۸	-	-	+
۱۸	F/۳۲	سلول‌های نئوپلاستیک با ظاهر روشن، شیارهای هسته‌ای هم پوشان تهاجم به بافت‌های چربی فیبردار	-	+
۱۹	M/۶۴	-	+	+
۲۰	F/۵۱	سلول‌های نئوپلاستیک با ساختار پاپیلاری، هسته زمینه روشن، بعضی واجد شیار همراه با سودوانکلوژیون	+	+
۲۱	F/۶۵	-	+	+
۲۲	F/۴۳	-	+	+
۲۳	F/۴۴	-	+	+
۲۴	M/۲۷	-	+	+
۲۵	F/۱۷	-	+	+
۲۶	F/۴۵	-	+	+
۲۷	F/۱۵	-	+	+
۲۸	M/۳۴	سلول‌هایی با ظاهر زمینه روشن، شیارهای هسته‌ای هم پوشان در فرم پاپیلا، تهاجم به کپسول و عروق	+	+
۲۹	F/۶۵	-	+	+
۳۰	F/۴۵	-	+	+
۳۱	F/۴۱	-	+	+
۳۲	M/۲۸	-	-	+

۳۳	F/۵۰	سلول‌های نوپلاستیک با ساختار پاپیلاری، هسته زمینه روشن، بعضی واجد شیار همراه با سودو انکلوژیون	-	+
۳۴	M/۶۷	سلول‌های در حال تکثیر با هسته‌های گرد منفرد و سیتوپلاسم انوزینوفیلیک، آرایش یافته به صورت فولیکول‌هایی با اندازه متغیر	+	+
۳۵	M/۴۹		-	+
۳۶	F/۳۴		-	+
۳۷	M/۲۹		-	-
۳۸	F/۱۵		-	+
۳۹	M/۳۸		-	-
۴۰	F/۴۳	سلول‌های در حال تکثیر واجد سیتوپلاسم فراوان انوزینوفیلیک	+	-
۴۱	M/۳۷		-	+
۴۲	M/۵۳		-	+
۴۳	F/۳۷		-	+
۴۴	F/۳۷		-	-
۴۵	F/۴۵		-	-
۴۶	F/۴۲		-	-
۴۷	F/۲۸		-	+
۴۸	F/۴۸		-	+
۴۹	F/۵۳	سلول‌های نوپلاستیک با الگوی فولیکولار، پلی مورفسم غیر تبیک هسته‌ای با سیتوپلاسم انوزینوفیلیکی کم	+	-

F: Female M: Male

استخراج RNA: استخراج RNA از نمونه‌های بافتی فریز شده با استفاده از محلول RNX plusTM و بر اساس دستورالعمل شرکت سازنده انجام شد (سیناژن-ایران). به دلیل حساسیت کار با RNA از نظر آلودگی با RNase، جهت غیرفعال‌سازی این آنزیم کلیه لوازم مورد استفاده با محلول DEPC ۰/۱ درصد تیمار گردید. پس از خرد کردن نمونه‌های بافتی توسط هموژنایزر در نیتروژن مایع، به ازای هر ۵۰ تا ۱۰۰ میلی گرم از بافت مورد نظر ۱ میلی لیتر از محلول RNX plus اضافه و کاملاً یکنواخت شد. سپس RNA توسط محلول کلروفرم جداسازی و با استفاده از ایزوپروپانول رسوب داده شد. رسوب RNA پس از شستشو توسط اتانول در ۰/۱ میلی مول EDTA نگهداری گردید. سپس کمیت و

کیفیت RNA های به دست آمده به ترتیب با دستگاههای اسپکتروفتومتر و الکتروفورز ژل آگارز مورد بررسی قرار گرفتند.

طراحی پرایمر: در این مطالعه از ژن $\beta 2m$ به عنوان کنترل داخلی استفاده شد و برای تکثیر آن از پرایمرهایی که توسط بابایی و همکاران طراحی شده بود استفاده گردید (۱۴). جهت تکثیر ژن Survivin-2 α ، پس از دستیابی به توالی موردنظر از طریق سایت NCBI پرایمر مربوطه با استفاده از نرم افزار Generunner (نگارش ۳/۲۰ کمپانی Hastings software) طراحی و توسط شرکت Bioscience BV هلند ساخته شد. توالی و مشخصات این پرایمرها به صورت زیر می باشد:

Human $\beta 2m$ (NM-00114048):
(HBF): 5'- CTA CTC TCT CTT TCT GGC CTG-3'

استفاده قطعه‌ای با طول ۲۶۶ جفت باز را تولید می‌کنند (شکل ۲ و ۱). از ژن $\beta 2m$ به عنوان کنترل داخلی استفاده شد. برای اطمینان از عدم آلودگی، یک تیوب نیز به عنوان کنترل منفی به کار رفت که در آن به جای cDNA از آب دوبار تقطیر استریل استفاده شد. پس از انجام واکنش PCR برای اطمینان از تکثیر بهینه‌ی قطعه‌ی موردنظر، محصولات PCR توسط ژل آگارز ۲ درصد بررسی شد.

تعیین توالی: به منظور تأیید هویت قطعه حاصل از PCR، باند ۲۶۶ نوکلئوتیدی Survivin-2 α از ژل استخراج شد (سیناژن- ایران) و پس از تعیین توالی توسط شرکت میکروژن (Microgene) با توالی موجود در بانک ژنی مقایسه گردید.

(HBR): 5'- GAC AAG TCT GAA TGC TCC AC-3'

Survivin 2 α (AY927772):

Human Survivin 2 α Forward Primer (HS2 α F1): 5'-TGG CAG CCC TTT CTC AAG-3'

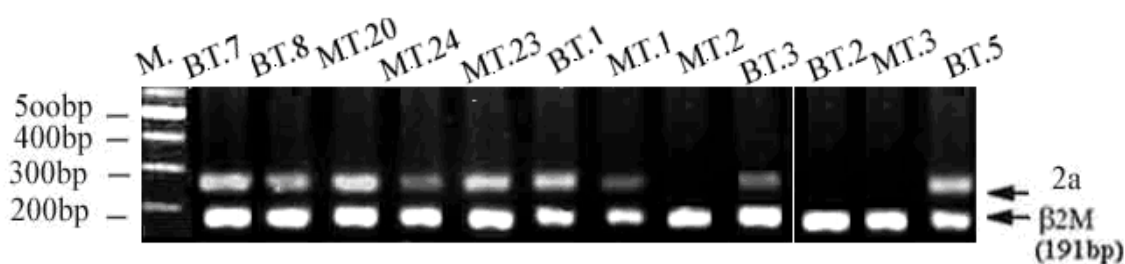
Human Survivin 2 α Reverse Primer (HS2 α R): 5'-AAC CCT CCC ATA CTA AGT GTC-3'

Human Survivin 2 α Forward Primer (HS2 α F2): 5'-ACCACCGCATCTCTACATTC-3'

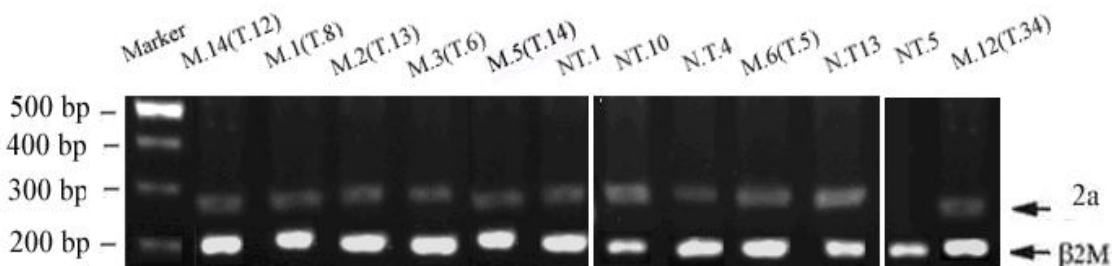
واکنش Hemi-Nested RT-PCR:

- **واکنش RT:** میزان مساوی از هر نمونه RNA (معادل ۵ میکروگرم) توسط آنزیم رونویسی معکوس (شرکت فرمتاز) (RevertAid™ M-MLV) و پرایمر Oligo dT، به cDNA تبدیل شد.

- **واکنش Hemi-Nested PCR:** واکنش PCR برای ژن Survivin-2 α در دو مرحله توسط پرایمرهای خارجی و داخلی صورت گرفت. پرایمرهای مورد



شکل ۱: طرح الکتروفورز محصولات PCR ژن Survivin-2 α و $\beta 2m$ در نمونه‌های توموری (بدخیم و خوش خیم).
لاین سمت چپ مارکر را نشان می‌دهد. B.T.: تومور خوش خیم. M.T.: تومور بدخیم

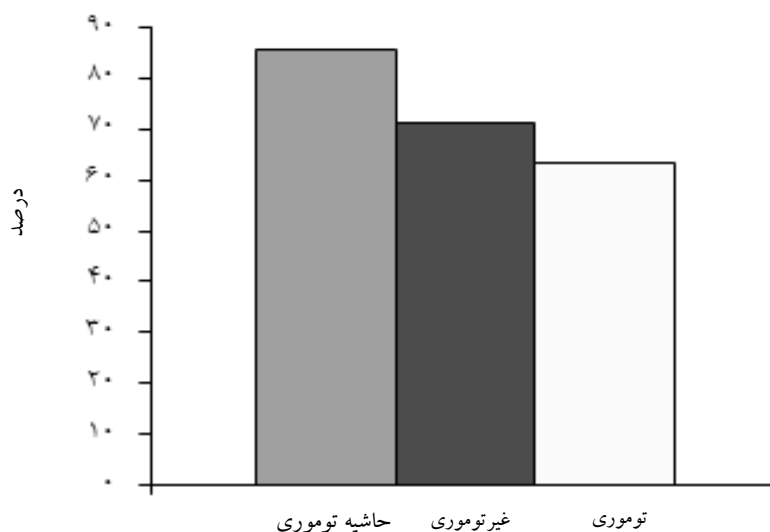


شکل ۲: الگوی الکتروفورز محصولات PCR ژن Survivin-2 α و $\beta 2m$ در نمونه‌های غیر توموری و حاشیه توموری. N.T.: غیر تومور. M.: حاشیه تومور

یافته‌ها

در مجموع ۷۷ نمونه بافت تیروئیدی شامل ۴۹ نمونه توموری، ۱۴ نمونه غیرتوموری و ۱۴ نمونه حاشیه تومور مورد مطالعه قرار گرفت که نمونه‌های توموری به ترتیب شامل ۳۵ و ۱۴ مورد بدخیم و خوش خیم بود. از میان ۴۹ مورد بیمار واجد تومور ۳۸ نفر زن و ۱۱ نفر مرد بودند که در زنان تقریباً به میزان ۳/۴ برابر مردان مشاهده شد. بررسی‌ها افزایش بیان واریانت پیرایشی Survivin-2 α را

در گروه حاشیه تومور نسبت به موارد غیرتوموری نشان می‌دهد که این مقدار ۸۵/۷ درصد برای نمونه‌های حاشیه تومور و ۷۱/۴ درصد در موارد غیر توموری می‌باشد؛ این درحالی است که کمترین بیان در گروه توموری به میزان ۶۳/۲ درصد بود که از این مقدار ۶۲/۸ درصد نمونه‌های بدخیم و ۶۴/۲ درصد موارد خوش خیم بیان Survivin-2 α را نشان دادند (نمودار ۱).



نمودار ۱: مقایسه درصد بیان واریانت پیرایشی Survivin-2 α در گروه‌های توموری، غیرتوموری و حاشیه تومور. افزایش میزان 2 α از نمونه‌های حاشیه تومور تا توموری به وضوح نشان داده شده است.

بحث

سرطان تیروئید شایع‌ترین بدخیمی غدد درون‌ریز است (۱). میزان شیوع آن در زنان تقریباً سه برابر مردان می‌باشد و بیشتر در دهه‌های میانی زندگی آنها بروز می‌یابد (۲). بررسی‌های انجام شده نشان می‌دهند که در

سال ۱۳۸۴ سرطان تیروئید جزء ده سرطان شایع در میان زنان آذربایجان شرقی بوده و میزان آن ۳ درصد است (۱۵). با توجه به اهمیت موضوع در حال حاضر اساس تحقیقات انجام شده بر روی سرطان تیروئید، بیشتر در زمینه درک مفاهیم ژنتیکی و مولکولی آن می‌باشد، لذا در سال‌های اخیر تلاش‌های فراوانی به منظور معرفی

شده بر روی سرطان سینه توسط وگران و همکاران نشان داد که در نمونه‌های حاشیه تومور این بافت، Survivin و واریانت‌های پیرایشی $\Delta Ex3$ ، 2b و 3b به میزان بسیار ناچیزی بیان می‌یابند (۲۰-۱۶).

در سال ۲۰۰۵، Caldas و همکاران در بررسی‌های خود بر روی رده‌های سلولی سینه، ریه، رحم و مدولابلاستوما واریانت 2a را شناسایی نمودند. آنها ضمن مطالعه بیان هم‌زمان Survivin و 2a در مقایسه با سلول‌های فاقد بیان، اذعان نمودند که واریانت 2a احتمالاً خاصیت آنتی‌آپوپتیکی Survivin را با افزایش آپوپتوز در سلول‌ها، کاهش می‌دهد (۱۱).

نتایج ما نیز برای اولین بار بیان واریانت پیرایشی Survivin-2a در سلول‌های توموری تیروئید را تایید می‌نماید. همچنین بیان این واریانت در سلول‌های غیرتوموری و حاشیه تومور نیز مشاهده می‌شود که بیان در نمونه‌های حاشیه تومور بیشتر از سایر گروه‌ها می‌باشد. هر چند بیان واریانت 2a در سلول‌های توموری کاهش نشان داده است، اما این اختلاف چشمگیر نمی‌باشد. بنابراین ظاهراً در پیشروی تومور و ماهیت غیرطبیعی سلول‌ها دخالت نمی‌کند. چنین به نظر می‌رسد که این واریانت در تبدیل انواع توموری خوش‌خیم به بدخیم نیز نقش ویژه‌ای ایفاء نمی‌نماید.

نتیجه‌گیری

در مجموع با توجه به نتایج به دست آمده چنین می‌توان بیان نمود که اختلاف در میزان بیان واریانت 2a در گروه‌های مختلف مورد بررسی، نمی‌تواند ملاک مناسبی جهت تمایز موارد غیر توموری تیروئید از انواع سرطانی باشد. با توجه به جدید بودن موضوع و مطالعات اندکی که بر روی Survivin-2a نسبت به سایر

یک تومور مارکر که بتواند ماهیت متنوع ندول‌های تیروئیدی را پیش‌بینی نموده و به عنوان یک فاکتور کمکی تشخیصی و پیش‌آگهی در کنار سایر روش‌های آسیب‌شناسی - بالینی به کار برده شود در حال انجام است.

امروزه با کشف واریانت‌های پیرایشی Survivin تلاش در راستای شناسایی ارتباط میان آنها و شکل‌گیری تومور در حال انجام است. هر چند مطالعات اولیه نشان‌دهنده ارتباط میان بیان Survivin با تومورهای اولیه می‌باشد ولی تاکنون اطلاعات جامعی راجع به ارتباط بیان این ژن و واریانت‌های پیرایشی آن در تومورهای تیروئیدی به‌دست نیامده است (۱۶، ۱۷). بدین منظور در مطالعه حاضر تلاش بر این است تا اطلاعات اولیه‌ای راجع به ارتباط بیان واریانت پیرایشی جدید Survivin-2a در ندول‌های تیروئیدی به‌دست آید.

مطالعات انجام شده بر روی تومورهای مختلف از جمله سرطان‌های سینه، معده، ریه، مری و روده نشان داده است که Survivin در بیشتر سلول‌های سرطانی بیان می‌یابد، در حالی که در سلول‌های طبیعی بیان آن قابل آشکارسازی نمی‌باشد. همچنین میزان بیان پائین آن در بافت‌های بالغ طبیعی مانند تیموس، پانکراس، معده، سلول‌های بنیادی $CD3^+$ و لنفوسیت‌های خون مشاهده شده است (۹، ۱۸).

تحقیقات انجام شده با استفاده از تکنیک ایمنوهیستوشیمی توسط دو و همکاران در سال ۲۰۰۶ و ایتو و همکاران در سال ۲۰۰۳ نشان داد که Survivin در بافت نرمال تیروئید قابل شناسایی و آشکارسازی نمی‌باشد، در حالی که تریو با استفاده از تکنیک RT-PCR و وسترن بلات میزان بیان اندک آنرا در بافت نرمال تیروئید شناسایی نمودند. همچنین مطالعات انجام

تشکر و قدردانی

نویسندگان مقاله مراتب تشکر و قدردانی خود را از معاونت پژوهشی و تحصیلات تکمیلی دانشگاه تبریز و همچنین از کارکنان اتاق عمل و بخش پاتولوژی بیمارستان امام خمینی تبریز ابراز می‌دارند.

واریانت‌های پیرایشی Survivin انجام شده است، ارتباط بیان این واریانت با تومورزایی و ارزیابی آن به عنوان یک تومور مارکر در دیگر سرطان‌ها و بررسی دقیق بیان Survivin-2 α به همراه سایر واریانت‌ها، در راستای به دست آوردن اطلاعات جامع‌تر و بهتر پیشنهاد می‌شود.

References

1. Patel NK, Bhuvanesh S. Genetic Considerations in Thyroid Cancer. *Cancer control* 2006; 13: 111-118.
2. Larijani B, Mohagheghi MA, Bastanhagh MH, Mosavi-Jarrahi AR, Haghpanah V. Primary Thyroid Malignancies in Tehran, Iran. *Medical Principles and Practice* 2005; 14: 396-400.
3. Franceschi S, La Vecchia C. Cancer of thyroid. *Trendes in Incidence and Mortality* 1999; 10: 393-424.
4. Ortel Y, Ortel J. Thyroid cytology and histology. *Clinical Endocrinology and Metabolism* 2000; 14: 541-557.
5. Hamburger JI. Diagnosis of thyroid nodules by fine needle biopsy. *Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism* 1994; 79: 335-339.
6. American Cancer Society, Thyroid cancer-All sections. 2006 [Access time 2009] Available from <http://documents.cancer.org/196.00/196.00.pdf>. [46 Screen].
7. Mazzaferri EL. Thyroid cancer—changing patterns of diagnosis and treatment, Business briefing. *US endocrine* 2005; 2:1-8.
8. Altieri DC. Survivin in apoptosis control and cell cycle regulation in cancer. *Prog Cell Cycle Res* 2003; 5: 447-52.
9. Altieri DC. Validating Survivin as a cancer therapeutic target. *Nat Rev Cancer* 2003; 3: 46-53.
10. Altieri DC. Survivin, versatile modulation of cell division and apoptosis in cancer. *Oncogene* 2003; 22: 8581-89.
11. Caldas H, Honsey LE, Altura RA. Survivin 2 α : a novel survivin splice variant expressed in human malignancies. *Molecular cancer* 2005; 4: 1-9.
- 12- Li F. Role of survivin and its splice variants in tumorigenesis. *British Journal of Cancer. Br J Cancer* 2005; 92: 212-16.
13. Sah NK, Khan Z, Khan GJ, Bisen, PS. Structural, functional and therapeutic biology of survivin. *Cancer Lett* 2006 244: 164-171.
14. Babaei E, Mowla SJ, Shariat Torbaghan Sh, Emadi Baygi M. Detection of Survivin Gene Expression in Formalin-Fixed Paraffin-Embedded Tissues of Human Osteosarcoma: Its Potential. *Iran Biomed J* 2006; 10: 39-45.
15. Ministry of Health and Medical Education, Registration of cancer cases incidence, Kelke Dirin pub 2005; 25-26.
16. Du ZX, Zangh HY, Gao DX, Wang HQ, Li YJ, Liu GL. Anti survivin oligonucleotides inhibit growth and induce apoptosis in human medullary thyroid carcinoma cells. *Exp Mol Med* 2006; 38: 230-24.
17. Tirro E, Consoli ML, Massimino M, Manzella L, Francesco F, Sciacca L, et al. Altered Expression of c-IAP, Survivin, and Smac Contributes to Chemotherapy Resistance in Thyroid Cancer Cells. *Cancer Res* 2006 66: 4263-72.
18. Quhtit A, Matrouguni K, Bengrine A, Koochekpou S, Zerfqou M, Yousief Z. Survivin is not only a death encounter but also a survival protein for invading tumor cells. *Frontiers in Bioscience* 2007; 12: 1260-1270.

19. Vegrán F, Boidet R, Oudin C, Riedinger JM, Lizard-Nacol S. Distinct expression of survivin splice variants in breast carcinomas. *International Journal Of Oncology* 2005; 27: 1151-1157.
20. Ito Y, Yoshida H, Uruno T, Nakano K, Miya A, Kobayashi K, and et al. Survivin expression is significantly linked to the dedifferentiation of thyroid carcinoma. *Oncology Reports* 2003; 10: 1337-1340.