مقاله پژوهشی

ارتباط میان پلی‌موفیسم ژن گیرنده مرتبط به استروژن گاما (ERRγ) و خطر ابتلا به سرطان پستان در جمعیت اصفهان

پدیده کریمی[1]*، منوچهر توسلی[1]، سیمین همتی[2]، کامران قائدی[1]، الهه کمالی[1]

۱. گروه زیست شناسی، دانشکده علوم، دانشگاه اصفهان، هزار جریب، اصفهان، ایران.
۲. گروه پرتودرمانی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران.

چکیده/ سرطان پستان توموری وابسته به هورمون است که توسط هورمون‌های استروئیدی شامل استروژن و پروژسترون تنظیم می‌شود. به این ترتیب گیرنده‌های مرتبط به استروژن که از گروه گیرنده‌های هسته‌ای یتیم به حساب می‌آیند می‌توانند با مسیر پیام‌رسانی استروژن تداخل کرده و باعث رشد تومورهای جامد شوند. در تحقیق حاضر با جمع‌آوری نمونه‌های خون مربوط به ۱۵۰ زن مبتلا به سرطان پستان مراجعه کننده به بیمارستان سیدالشهداء شهر اصفهان و ۱۵۰ زن سالم از نظر ابتلا به بیماری سرطان پستان مراجعه کننده به آزمایشگاه کلینیکال بیمارستان الزهرا اصفهان به عنوان کنترل، پس از استخراج DNA آنها و تکثیر توالی مورد نظر، نمونه هائی با اندازهای متفاوت تعیین توالی شده و به عنوان مارکر مورد استفاده قرار گرفتند تا ارتباط میان پلی‌مورفیسم تکرار چهار نوکلئوتیدی AAAG واقع در ناحیه اینترونی ژن گیرنده مرتبط به استروژن گاما (ERRγ) با خطر ابتلا به سرطان پستان در زنان اصفهانی تعیین شود. نتایج این تحقیق نشان می دهدکه زنان با تکرار کوتاه AAAG، در معرض خطر بالاتری برای ابتلا به سرطان پستان قرار دارند (OR=7.14). این نتایج احتمال دخالت تکرار AAAG را در تنظیم بیان این ژن پیشنهاد می‌کنند. به این ترتیب الل‌های کوتاه با ۶ و ۷ تکرار از پلی‌مورفیسم مربوطه در ژن ERRγ شاید بتوانند به عنوان یک مارکر پیش آگاهی سرطان پستان مورد استفاده قرار گیرند.

واژگان کلیدی: گیرنده مرتبط به استروژن گاما؛ سرطان پستان؛ پلی‌مورفیسم.

مقدمه

سرطان دومین عامل منجر شونده به مرگ در سراسر جهان (۱) و سومین عامل مرگ در ایران پس از بیماری‌های قلبی-عروقی و حوادث است (۲). سرطان پستان در ایران در راس سرطان‌های زنان قرار دارد. به گونه‌ای که در سال ۱۳۷۵ رتبه اول را در بین سرطان‌های شایع زنان داشته و بر اساس آخرین آمار رسمی و قابل استناد، در سال ۱۳۸۲ با شیوع ۱۵/۹ در صد هزار همچنان رتبه اول را به خود اختصاص داده است. از نظر شیوع سرطان پستان در استان‌های کشور، استان اصفهان با ۲۰/۶۱ در صد هزار، دومین استان شایع بعد از یزد گزارش شده‌است (۳,۴). استروژن که نوعی هورمون جنسی ساخته شده از کلسترول است و از تخمدان‌ها ترشح می‌شود، می‌تواند رشد، تمایز و عملکرد دسته وسیعی از بافت‌های بدن انسان را تنظیم کرده و نقش مهمی را در رشد و توسعه سرطان پستان ایفا کند (۵,۶). اکثر سرطان‌های پستان انسانی به صورت وابسته به استروژن آغاز می‌شوند و گیرنده استروژن را بیان می‌کنند (۷). تاثیرات بیولوژیک استروژن از طریق گیرنده‌های استروژن اعمال می‌شود

* پدیده کریمی، دانشجوی دکترا
گروه زیست شناسی، دانشکده علوم، دانشگاه اصفهان، هزار جریب، اصفهان، ایران
پست الکترونیک: karimi_padideh@yahoo.com
تاریخ دریافت: ۹۲/۳/۸ • تاریخ پذیرش: ۹۲/۵/۶

Archive of SID

www.SID.ir

و هر دو گیرنده استروژن (ERs)[1] عضو خانواده بزرگ گیرنده‌های هسته‌ای می‌باشند که به عنوان فاکتورهای رونویسی فعال شده به وسیله لیگاند عمل می‌کنند (۸). گروه دیگری از گیرنده‌های هسته‌ای به نام گیرنده‌های هسته‌ای یتیم[2] نیز وجود دارند که تاکنون هیچ لیگاند طبیعی شناخته شده‌ای برای آنها پیدا نشده است (۹,۱۰) و نمونه‌ای از آنها، گیرنده‌های مرتبط به استروژن (ERRs)[3] هستند که اخیرا مشخص شده آنها نیز می‌توانند نقش مهمی در مسیر پیام‌رسانی استروژن ایفا کنند (۱۰-۸).

گیرنده‌های مرتبط به استروژن (ERRs) می‌توانند علاوه بر شناسایی توالی‌های ویژه گیرنده‌های مرتبط به استروژن (ERRE)[4] که مختص اتصال این گیرنده‌ها (ERRs) هستند، توالی‌های ویژه گیرنده‌های استروژن (ERE)[5] واقع در بالادست ژن‌های هدف آن گیرنده‌ها (ERs) را نیز شناسایی کنند (۱۱). گیرنده مرتبط به استروژن گاما (ERRγ)[6] به عنوان سومین عضو شناخته شده این خانواده به علت همولوژی بالا با گیرنده استروژن آلفا (ERα) شناسایی شد (۱۲).

اخیرا مشخص شده است که در دومین اینترون ERRγ، چندین ناحیه متصل شونده به گیرنده استروژن وجود دارد و احتمالا بیان ERRγ با افزایش میزان استروژن از طریق اتصال گیرنده استروژن به این نواحی تنظیم می‌شود (۱۳). پس از افزایش بیان ERRγ در سلول‌های سرطان پستان، همانطور که اشاره شد، ERRγ نه تنها توالی‌های پاسخ دهنده به ERR (ERRE) را شناسایی می‌کند؛ بلکه می‌تواند به نواحی پاسخ دهنده به استروژن (ERE) نیز متصل شده و رونویسی به واسطه ERE را با وجود یا بدون وجود ERα تحریک کند (۸,۱۴). ERRγ نواحی ERE را از طریق هترودیمریزاسیون با گیرنده‌های استروژن یا در رقابت مستقیم با آنها برای اتصال به ERE یا کمک فعال کننده‌ها شناسایی می‌کند و در نهایت رونویسی ژن‌های پاسخ دهنده به استروژن که باعث تکثیر سلولی و القا متاستاز می‌شوند را تحریک می‌کند (۱۵).

گیرنده مرتبط به استروژن گاما دارای تنظیم‌کننده‌های مشترک با گیرنده استروژن نیز بوده (۱۶) و به این ترتیب می‌تواند به عنوان جایگزینی برای گیرنده استروژن در مسیر پیام رسانی استروژن عمل کند. ERRγ همچنین در پاسخ رونویسی به هیپوکسی و رشد تومورهای جامد (۱۷) و مقاومت به تاموکسیفن (۱۸) نقش دارد.

میکروستلایت‌ها توالی‌های تکراری پشت سر هم متشکل از ۱ تا ۶ نوکلئوتید هستند که در سرتاسر ژنوم پراکنده می‌باشند (۱۹). تغییر در تعداد این واحدهای تکراری تاثیرات مهمی روی بیان ژن‌ها داشته و می‌تواند به پیشرفت سرطان کمک کند (۲۰). نتایج مطالعه قبلی نشان می‌دهد که تکرار چهار نوکلئوتیدی n([AAAG]) واقع در 5′UTR ژن ERRγ در استعداد ابتلا به سرطان پستان نقش دارد (۲۱). به این ترتیب با توجه به نقش مهم گیرنده مرتبط به استروژن گاما در بروز سرطان پستان (۱۸-۱۶) و اهمیت پلی‌مورفیسم مذکور در القا بیان این ژن (۲۱) و با توجه به اینکه در گذشته نیز موارد جالب توجهی از اختلاف در توزیع اللی میان جمعیت ما و سایر جمعیت‌ها مشاهده شده است (۲۷,۲۸) بر آن شدیم تا با مطالعه پلی‌مورفیسم AAAG واقع در ناحیه اینترونی ژن ERRγ ارتباط این پلی‌مورفیسم را با خطر ابتلا به سرطان پستان در میان زنان اصفهانی مورد بررسی قرار دهیم.

روش کار:

این مطالعه یک مطالعه مورد شاهدی بود که بر روی ۱۵۰ زن مبتلا به سرطان پستان در محدوده سنی ۸۲-۲۶ سال انجام شد. جمع‌آوری نمونه این بیماران از میان زنان تحت شیمی درمانی یا پرتودرمانی در بیمارستان سیدالشهدای اصفهان انجام شد. گروه کنترل نیز از میان زنان بالای ۴۵ سال مراجعه کننده به آزمایشگاه کلینیکال بیمارستان الزهرای اصفهان که فاقد سابقه خانوادگی ابتلا به سرطان به خصوص سرطان پستان بودند انتخاب شد. اطلاعات بالینی لازم با پرسش از افراد شاهد و مطالعه پرونده بیماران پس از کسب رضایت ایشان و مطلع سازی آنها از هدف تحقیق حاضر به دست آمد.

DNA ژنومی از سلول‌های خونی افراد مورد آزمایش به روش رسوب نمکی[7] استخراج شد (۲۲) و ناحیه حاوی پلی‌مورفیسم مورد نظر توسط پرایمر پیشرو (5′ACCTAGGAGATAGAGGTTGC-3′)

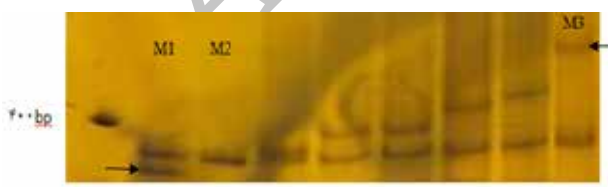
1.Estrogen Receptors
2. Orphan Nuclear Receptors
3. Estrogen Related Receptors
4. ERR Response Element
5. Estrogen Response Element
6. Estrogen Related Receptor Gamma
7. Salting Out

Archive of SID
www.SID.ir

جدول ۱. فراوانی اللی و آنالیز Odds Ratio الل‌های تکرار AAAG در افراد بیمار مبتلا به سرطان پستان و افراد کنترل در جمعیت اصفهان

الل‌ها	فراوانی اللی (٪)		OR	P- value
	بیماران	افراد کنترل	(فاصله اطمینان ۵۹ درصد)	
$(AAAG)_{۶}$	۵(۱/۶۶٪)	۰	۶/۱(۰/۷۳-۵۰/۹۹۶)	۰/۰۵
$(AAAG)_{۷}$	۱(۰/۳۳٪)	۰		
$(AAAG)_{۸}$	۲(۰/۶۶٪)	۳(۱٪)	۰/۶۶(۰/۱۱–۴/۰۰۵)	۰/۶۵
$(AAAG)_{۹}$	۱۹۵(۶۵٪)	۲۱۱(۷۰/۳۳٪)	۰/۷۸(۰/۵۵۶ -۱/۱۰۴)	۰/۱۶
$(AAAG)_{۱۰}$	۱۲(۴٪)	۶(۳٪)	۲/۰۴(۰/۷۵۶–۵/۵۱۳)	۰/۱۵
$(AAAG)_{۱۱}$	۶(۳٪)	۶(۳٪)	۱(۰/۳۱۹–۳/۱۳۶)	۱
$(AAAG)_{۱۲}$	۴۶(۱۵/۳۳٪)	۴۵(۱۵٪)	۱/۰۲(۰/۶۵۷-۱/۶۰۳)	۱
$(AAAG)_{۱۳}$	۳(۱٪)	۵(۱/۶۶٪)	۰/۵۹(۰/۱۴۱–۲/۵۱۶)	۰/۴۷
$(AAAG)_{۱۴}$	۵(۱/۶۶٪)	۳(۱٪)	۱/۶۷(۰/۳۹۷–۷/۰۸۵)	۰/۴۷
$(AAAG)_{۱۵}$	۱۴(۴/۶۶٪)	۱۳(۴/۳۳٪)	۱/۰۸(۰/۴۹۹-۲/۳۴)	۰/۸۴
$(AAAG)_{۱۶}$	۷(۲/۳۳٪)	۸(۲/۶۶٪)	۰/۸۷(۰/۳۱۲–۲/۴۳۶)	۰/۷۹
$(AAAG)_{۱۷}$	۳(۱٪)	۰		
$(AAAG)_{۱۸}$	۱(۰/۳۳٪)	۰		

و پیرو (5′-CTTCTTCTGCACTATCAGGG-3′) تکثیر گردید (۲۱). صحت محصولات PCR با استفاده از ژل آگارز ۱٪ تائید و سپس برای تعیین دقیق طول محصولات از روش الکتروفورز عمودی ژل پلی اکریل آمید ۱۰٪ استفاده گردید. ژل به روش نیترات نقره رنگ آمیزی و نتایج توسط اسکنر ثبت شد. پس از مشاهده پلی مورفیسم طولی، فراوان‌ترین الل هموزیگوت، کوتاهترین و بلندترین الل و یک نمونه هتروزیگوت مورد تعیین توالی قرار گرفتند. تخلیص و تعیین توالی محصول PCR توسط شرکت سیناژن صورت گرفت و از آنها به عنوان مارکرهای ویژه برای تعیین دقیق طول تکرار الل‌های بیمار و کنترل استفاده شد. مطالعات آماری توسط نرم افزار SPSS (۱۹) و SISA(http://home.clera.net/sisa/) انجام شد. ابتدا میزان فراوانی الل‌ها و ترکیبات اللی در جمعیت مورد مطالعه تعیین شد. در نهایت ارتباط این تکرارها با بروز سرطان پستان در جمعیت به کمک آزمون‌های مربع کای پیرسون(χ^2)و نسبت افزاینده(OR)[8] مورد بررسی قرار گرفت.



شکل۱: تصویر ژل پلی‌اکریل‌آمید ۱۰٪ جهت بررسی پلی‌مورفیسم ناحیه اینترونی ژن ERRγ. در اینجا علاوه بر مارکر ۱۰۰ جفت باز (M)، از نمونه‌های M1، M2 و M3 بعد از تعیین توالی به عنوان مارکر مخصوص الل استفاده شد. نمونه M2 رایج‌ترین ژنوتیپ موجود در جمعیت یعنی هموزیگوت با الل ۹ تکرار را نشان می‌دهد. فلش‌ها الل کوتاه (۷ تکرار) و بلندترین الل (۱۸ تکرار) را نشان می‌دهند. افراد هموزیگوت و هتروزیگوت به خوبی قابل مشاهده هستند.

8. Odds Ratio.

Archive of SID
www.SID.ir

جدول ۲: فراوانی و در صد ژنوتیپ های مختلف AAAG واقع در ناحیه اینترونی ژن ERRγ در بیماران سرطان پستان و افراد کنترل در جمعیت اصفهان

ژنوتیپ	بیمار (درصد)	کنترل (درصد)
۶/۹	۵ (۳/۳۳)	۰
۷/۹	۱ (۰/۶۶)	۰
۸/۸	۱ (۰/۶۶)	۰
۸/۹	۰	۳ (۲)
۹/۹	۶۳ (۴۲)	۷۶ (۵۰/۶۶)
۹/۱۰	۷ (۴/۶۶)	۲(۱/۳۳)
۹/۱۱	۳ (۲)	۵(۳/۳۳)
۹/۱۲	۳۱ (۲۰/۶۶)	۲۹ (۱۹/۳۳)
۹/۱۳	۳(۲)	۵ (۳/۳۳)
۹/۱۴	۴(۲/۶۶)	۲ (۱/۳۳)
۹/۱۵	۶(۴)	۸ (۵/۳۳)
۹/۱۶	۵ (۳/۳۳)	۵(۳/۳۳)
۹/۱۷	۳ (۲)	۰
۹/۱۸	۱ (۰/۶۶)	۰
۱۰/۱۰	۱(۰/۶۶)	۰
۱۰/۱۱	۲(۱/۳۳)	۰
۱۰/۱۲	۱(۰/۶۶)	۲ (۱/۳۳)
۱۰/۱۵	۰	۱ (۰/۶۶)
۱۰/۱۶	۰	۱(۰/۶۶)
۱۱/۱۲	۱ (۰/۶۶)	۱(۰/۶۶)
۱۲/۱۲	۳ (۲)	۴ (۲/۶۶)
۱۲/۱۵	۶(۴)	۳ (۲)
۱۲/۱۶	۱ (۰/۶۶)	۲ (۱/۳۳)
۱۴/۱۵	۱ (۰/۶۶)	۱(۰/۶۶)
۱۵/۱۶	۱ (۰/۶۶)	۰

جدول۳: بررسی ارتباط بین الل های کوتاه و ریسک ابتلا به سرطان پستان در جمعیت اصفهان

الل‌ها	بیماران	کنترل‌ها	P-value	OR(فاصله اطمینان رصد)
$(AAAG)_{۶و۷}$	۶	۰	۰/۰۳	۷/۱۴ (۰/۸۷۳-۵۸/۴۲)

در میان جمعیت بیماران و افراد کنترل بسیار متفاوت بود (جدول۱). کوتاهترین الل‌ها یعنی الل‌های دارای ۶ و ۷ کپی از تکرار AAAG تنها در افراد بیمار مشاهده شدند.

همچنین در کل افراد مورد بررسی ۲۵ ترکیب اللی (ژنوتیپ) مختلف دیده شد که هیچ تفاوت معنی داری در فروانی آنها میان دو جمعیت بیمار و کنترل وجود نداشت (جدول۲). شایعترین ژنوتیپ در میان هر دو گروه بیمار و کنترل به صورت هوزیگوت ۹ تکرار (۹/۹) با فراوانی به ترتیب ۴۲٪ و ۵۰/۶۶٪ بود. پس از آن رایج‌ترین ژنوتیپ میان هر دو گروه به صورت هتروزیگوت (۹/۱۲) بود. ژنوتیپ‌های مشاهده شده برای هر دو الل کوتاه که تنها در بیماران مشاهده شدند به صورت هتروزیگوت با الل ۹ تکرار AAAG یعنی (۶/۹) و (۷/۹) بودند. الل‌های کوتاه ۶ و ۷ تکرار به صورت هموزیگوت در میان هیچ یک از گروه‌های بیمار و کنترل مشاهده نشدند.

با توجه به نتایج آزمونهای مربع کای پیرسون (χ^2) و ([OR]) (جدول۳)، خانم‌های حامل الل‌های کوتاه ۶ و ۷ تکرار AAAG در معرض خطر بالایی برای ابتلا به سرطان پستان قرار دارند.

در مرحله بعدی ارتباط بین طول تکرار AAAG در ژن ERRγ با فاکتورهای سن شروع بیماری، درجه پیشرفت بیماری و وضعیت گیرنده‌های استروژن (نمونه‌های توموری یا بیان کننده گیرنده استروژن و گیرنده پروژسترون (ER+/PR+) هستند یا هیچ یک از این دو گیرنده را بیان نمی‌کنند (ER-/PR-) و یا تنها یکی از این دو گیرنده را بیان می‌کنند (ER+/PR- یا ER-/PR+) بررسی شد (داده‌ها نشان داده نشدند) اما هیچ ارتباط معنی‌داری پیدا نشد. به هر حال برای به دست آوردن نتایج دقیق‌تر به انجام آزمایشات دقیق‌تر با نمونه‌های بزرگتر نیاز است.

یافته‌ها:

با توجه به توانایی کم ژل آگارز در جداسازی، برای اندازه‌گیری دقیق تعداد تکرارهای توالی AAAG واقع در ناحیه اینترونی ژن ERRγ، بررسی‌های بعدی محصول PCR بر روی ژل پلی‌اکریل‌آمید ۱۰٪ انجام شد (شکل۱).

در میان جمعیت بیمار و کنترل مورد بررسی در این تحقیق، ۱۲ الل متفاوت در محدوده بین ۶ تا ۱۸ تکرار AAAG مشاهده شد (جدول۱). بیشترین فراوانی اللی میان دو گروه بیمار و کنترل متعلق به الل $(AAAG)_{۹}$ به ترتیب با فراوانی ۶۵٪ و ۷۰/۳۳٪ بود. دومین الل رایج در میان هر دو گروه بیمار و کنترل، الل $(AAAG)_{۱۲}$ با فراوانی ۱۵/۱۶٪ بود. پراکندگی اللی

بحث:

در رابطه با نقش گیرنده مرتبط به استروژن گاما (ERRγ) در اتیولوژی سرطان پستان همچنان ابهاماتی وجود دارد زیرا

Archive of SID
www.SID.ir

تعـدادی از تحقیقـات حاکـی از نقـش تقویـت کنندگـی آن بـرای سرطـان پسـتان هسـتند (۱۷,۱۸,۲۳,۲۴). در حالیکـه مطالعـات دیگـری موید نقـش مهارکنندگـی آن در ایجـاد سرطـان پسـتان هسـتند (۲۵,۲۶). همچنیـن Ijichi و همکارانـش نشـان دادنـد بـا افزایـش میـزان اسـتروژن، بیـان ERRγ بیشـتر شـده و در حالتـی وابسـته یـا مسـتقل از ER باعـث بیـان ژن‌هـای هـدف اسـتروژن و تکثیـر سـلولی و القـا متاسـتاز می‌شـود (۲۴). بـه عـلاوه ERRγ در پاسـخ رونویسـی بـه هیپوکسـی و رشـد تومورهـای جامـد (۱۷) و مقاومـت بـه تاموکسـیفن (۱۸) نیـز دخالـت دارد.

در ایـن مطالعـه مـا ارتبـاط پلی‌مورفیسـم AAAG واقـع در ناحیه اینترونی ژن ERRγ را با خطر ابتلا به سرطان پسـتان مورد بررسـی قـرار دادیـم. پیـش از ایـن، ارتبـاط این پلی‌مورفیسـم با خطـر ابتلا بـه سرطـان در ایـالات متحـده آمریـکا مـورد مطالعـه قـرار گرفتـه بـود (۲۱). پراکندگـی اللـی در ایـن دو جمعیـت تفاوت‌هـای قابـل ملاحظـه ای را نشـان می‌دهـد. در جمعیت اصفهـان محدوده اللی بیـن ۶ تـا ۱۸ تکـرار اسـت و شـایعترین الـل دارای ۹ کپـی از تکـرار مربوطـه می‌باشـد، در حالیکـه در آمریکا محدوده اللـی بین ۲۱-۵ تکـرار و شـایعترین الـل با ۷ تکـرار گزارش شـد (۲۱).

ایـن در حالـی اسـت کـه در جمعیـت ایـران الـل ۷ تکـرار تنهـا در میـان یـک نفـر از افـراد بیـمار مشـاهده شـد و در هیـچ یـک از نمونه‌های کنترل وجود نداشـت. در تحقیق انجام شـده به وسـیله Galindo و همکارانـش، آنهـا الـل ۱۳ تکرار بـه عنوان نقطه برش در نظـر گرفتـه و اللهـای حـاوی ۱۳ تکـرار یا بیشـتر را بـه عنوان الـل بلنـد و الـل های بـا تعداد تکـرار کمتر از ۱۳ را بـه عنوان الل کوتـاه در نظـر گرفتنـد. نتایـج تحقیقـات آنهـا نشـان داد که میان اللهـای بلنـد و خطـر ابتـلا بـه سرطـان پسـتان ارتبـاط مسـتقیم وجـود دارد (OR=3, P-value=0.01) (۲۱).

بـه طـور کامـلا متضـاد بـا یافته‌هـای آنهـا، نتایـج پژوهـش مـا نشـان می‌دهـد کـه خطـر ابتـلا بـه سرطـان پسـتان بـا اللهـای کوتـاه ۶ و ۷ تکـرار از پلی‌مورفیسـم مربوطـه در ارتبـاط اسـت (OR=7.14, P-value=0.03) و هیـچ ارتباطـی میـان اللهـای بلنـد و خطـر ابتلا به سرطان پسـتان وجود ندارد. دلیـل این ارتباط احتـمالا می‌توانـد القـا بیـان بیشـتر ژن ERRγ بـه وسـیله اللهـای کوتـاه بـا تاثیـر بـر سـاختمان دوم تقویت‌کننده‌ها[9] باشـد و به این ترتیـب بـا بیـان بیشـتر ایـن ژن بـه تقویـت سرطـان پسـتان کمـک کننـد. در گذشـته نیـز مـا اختلافاتـی در توزیع اللی و ارتبـاط تکرار CA در ژن‌هـای EGFR و IGF-1 بـا خطـر ابتـلا به سرطان پسـتان بـا برخـی از جمعیـت های دیگر مشـاهده کـرده بودیـم (۲۷,۲۸). چنیـن اختلافاتـی احتـمالا بـه دلیل تفاوت‌هـای نـژادی و بیان چند فاکتـوری ایـن ژن‌هـا اسـت. ارتبـاط قـوی آلل هـای کوتـاه ۶ و ۷ با سرطان پسـتان (OR=7.1) پیشـنهاد می کند که شـاید بتوان از این آلـل هـا بعنـوان یک مارکر پیـش آگهی دهنده برای سرطان پسـتان در جمعیـت اصفهـان اسـتفاده نمـود ولـی فراوانـی کم ایـن آلل ها (۱/۹۹٪) ایـن مسـئله را زیـر سـئوال می برد.

در مطالعـه Galindo و همکارانـش، آنهـا تکـرار AAAG را در ناحیـه 5′UTR ژن ERRγ اعـلام کردنـد در حالیکه نتایج تحقیقات بیوانفورماتیکی ما (Ensembl site & NCBI blast) نشان داد که تکـرار مربوطـه در ناحیـه اینترونـی ژن ERRγ قـرار دارد. البته این ژن واریانت‌هـای رونویسـی متفاوت برخی بـا اولین اگزون متناوب دارد و تکـرار AAAG در بالادسـت ایزوفرم‌های خاصی واقع شـده اسـت. بنابرایـن تصـور مـا ایـن اسـت کـه ایـن تکـرار بـرای بعضـی ایزوفرم‌هـای رونوشـت‌برداری ممکـن اسـت بـه عنـوان پروموتـر و بـرای برخـی دیگـر بـه عنـوان تنظیم‌کننـده پیرایـش متنـاوب عمل نمایـد. Galindo و همکارانـش همچنیـن موفـق شـدند بیـان یـک ژن گزارشـگر را در سـلول‌های سرطان پسـتان +ER به وسـیله یک توالـی حـاوی تکـرار AAAG ژن ERRγ هدایـت کنند(۲۱).

نتیجه‌گیری:

بـه طـور خلاصـه نتایـج ایـن پژوهـش نشـان می‌دهـد کـه اللهای کوتـاه تکـرار AAAG واقـع در ژن ERRγ، ممکـن اسـت بـا خطر افزایـش یافتـه ابتلا بـه سرطان پسـتان مرتبط باشـند. نتایج مربوط بـه طـول تکرارهـا و ارتبـاط آنهـا با خطر سرطان پسـتان مـی تواند بـر حسـب نـژاد و قومیـت متفـاوت باشـد. بـه هـر حـال انجـام تحقیقـات بیشـتر بـا جمعیتـی بزرگتر بـرای تایید ارتباط بیـن اللها و ژنوتیپ‌هـای مختلـف بـا سـطح بیـان ژن و خطر ابتـلا به سرطان پسـتان و همچنیـن تاییـد ایـن پلی‌مورفیسـم بـه عنوان یـک مارکر پیـش آگهـی دهنـده بـرای سرطان پسـتان نیاز اسـت.

9. Enhancers

www.SID.ir

منـابع/ References

1. Marsden CG, Wright MJ, Carrier L, Moroz K, Pochampally R, Rowan BG. A novel in vivo model for the study of human breast cancer metastasis using primary breast tumor-initiating cells from patient biopsies. Bio Med Central (BMC) Cancer 2012; 12(10): 1-16.
2. Emami Razavi SH, Aghajani H, Haghazali M, Nadali F, Ramazani R, Dabiri E. The most common cancers in Iranian women. Iran J Public Health 2009; 38(Suppl.): [109]-12.
3. Mousavi SM, Gouya MM, Ramazani R, Davanlou M, Hajsadeghi N, Seddighi Z. Cancer incidence and mortality in Iran. Ann Oncol 2009; 20(3): [556-63].
4. Harirchi I, Kolahdoozan S, Karbakhsh M, et al. Twenty years of breast cancer in Iran: downstaging without a formal screening program. Ann Oncol 2011; 22(1): 93-7.
5. Lewis-Wambi JS, Jordan VC. Estrogen regulation of apoptosis: how can one hormone stimulate and inhibit?. Breast Cancer Res 2009; 11(3): 206-18.
6. Bai Z, Gust R. Breast Cancer, Estrogen Receptor and Ligands. Arch Pharm 2009; 342(3): 133-49.
7. Hu P, Kinyamu HK, Wang L, Martin J, Archer TK, Teng C. Estrogen induces estrogen-related receptor α gene expression and chromatin structural changes in estrogen receptor ER.-positive and ER-negative breast cancer cells. JBC 2008; 283(11): 6752-63.
8. Sun P, Wei L, Denkert C, Lichtenegger W, Sehouli J. The orphan nuclear receptors, estrogen receptor-related receptors: their role as new biomarkers in gynecological cancer. Anticancer Research 2006; 26(2C): 1699-706.
9. Riggins RB, Mazzotta MM, Maniya OZ, Clarke R. Orphan nuclear receptors in breast cancer pathogenesis and therapeutic response. Endocr Relat Cancer 2010; 17(3): R213–31.
10. Zhang Z, Teng CT. Interplay between estrogen-related receptor alpha ERRα. and gamma ERRγ. on the regulation of ERRα gene expression. Mol Cell Endocrinol 2007; 264(1-2): 128–41.
11. Xie YB, Park JH, Kim DK, et al. Transcriptional corepressor SMILE recruits SIRT1 to inhibit nuclear receptor estrogen receptor-related receptor γ transactivation. J Biol Chem 2009; 284(42): 28762–74.
12. Ariazi EA, Jordan VC. Estrogen-related receptors as emerging targets in cancer and metabolic disorders. Curr Top Med Chem 2006; 6(3): 203–15.
13. Carroll JS, Meyer CA, Song J, et al. Genome-wide analysis of estrogen receptor binding sites. Nat Genet 2006 ; 38(11): 1289–97.
14. Giguere V. To ERR in the estrogen pathway. Trends Endocrinol. Metab 2002; 13(5): 220–5.
15. Heard DJ, Norby PL, Holloway J. Vissing H. Human ERRgamma, a third member of the estrogen receptor-related receptor ERR. subfamily of orphan nuclear receptors: tissue specific isoforms are expressed during development and in the adult. Mol Endocrinol 2000; 14(3): 382-92.
16. Hall JM, McDonnell DP. Coregulators in nuclear estrogen receptor action: from concept to therapeutic targeting. Mol Interv 2005; 5(6): 343–57.
17. Ao A, Wang H, Kamarajugadda S, Lu J. Involvement of estrogen-related receptors in transcriptional response to hypoxia and growth

Archive of SID

www.SID.ir

of solid tumors. Proc Natl Acad Sci U S A 2008; 105(22): 7821–6.

18. Riggins RB, Lan JP, Zhu Y, et al. ERRgamma mediates tamoxifen resistance in novel models of invasive lobular breast cancer. Cancer Res 2008; 68(21): 8908–17.
19. Ellegren H. Microsatellites: simple sequences with complex evolution. Nat Rev Genet 2004; 5(6): 435–45.
20. Fondon JW, Garner HR. Molecular origins of rapid and continuous morphological evolution. Proc Natl Acad Sci 2004; 101(52): 18058–63.
21. Galindo CL, McCormick JF, Bubb VJ, et al. A long AAAG repeat allele in the 5′ UTR of the ERR-γ gene is correlated with breast cancer predisposition and drives promoter activity in MCF-7 breast cancer cells. Breast Cancer Res Treat 2011; 130(1): 41-8.
22. Miller SA, Dykes DD, Polesky HF. A simple salting out procedure for extracting DNA from human nucleated cells. Nucleic Acid Res 1998; 16(3): 1215.
23. Ariazi EA, Clark GM, Mertz JE. Estrogen-related receptor alpha and estrogen-related receptor gamma associate with unfavorable and favorable biomarkers, respectively, in human breast cancer. Cancer Res 2002; 62(22): 6510–8.
24. Ijichi N, Shigekawa T, Ikeda K, et al. Estrogen-related receptor γ modulates cell proliferation and estrogen signaling in breast cancer. J Steroid Biochem Mol Biol 2011; 123(1-2): 1–7.
25. Tiraby C, Hazen BC, Gantner ML, Kralli A. Estrogen-Related Receptor gamma promotes mesenchymal-to-epithelial transition and suppresses breast tumor growth. Cancer Res 2011; 71(7): 2518-28.
26. Eichner LJ, Perry MC, Dufour CR, et al. miR-378* mediates metabolic shift inbreast cancer cells via the PGC-1β/ERRγ transcriptional pthway. Cell Metab 2010; 12(4): 352–61.
27. Jami MS, Hemati S, Salehi Z, Tavassoli M. Association between the length of a CA dinucleotide repeat in the EGFR and risk of breast cancer. Cancer Invest 2008; 26(4): 434-7.
28. Javadi M, Hematti S, Tavassoli M. Polymorphic CA repeat length in Insulin-like Growth Factor 1 and risk of breast cancer in Iranian women. Med Oncol 2012; 29(2): 516-20.

Archive of SID

www.SID.ir

ABSTRACT

Association of the Polymorphism of the Estrogen-Related Receptor Gamma (ERR γ) Gene and the Risk of Breast Cancer in the Population of Isfahan

Padideh Karimi*, Simin Hematti, Kamran Ghaedi, Elahe Kamali, Manoochehr Tavassoli

Breast cancer is a hormone-dependent tumor which is regulated by steroid hormones including estrogen and progesterone. Therefore, estrogen-related receptors (ERRs) which belong to orphan nuclear receptor groups can interfere with the estrogen signaling pathway and cause the growth of solid tumors. In the present study, blood samples of 150 women with breast cancer and 150 healthy women were collected from Omid (Seyedoshohada) Cancer Hospital, Isfahan University of Medical Sciences and Clinical Laboratory, Alzahra Hospital, Isfahan University of Medical Sciences, Iran, respectively. DNA was extracted and amplified. Then, some of the alleles in variable sizes were sequenced and used as allele specific markers for exact determination of the number of AAAG repeats in other samples. This study was performed to determine the association between breast cancer risk and alleles of the tetranucleotide repeat (AAAG)n microsatellite in the intron of the ERR γ gene. Our results showed that women with short AAAG repeats were at higher risk of breast cancer (OR=7.14). These results suggest the possible involvement of the polymorphic AAAG repeat of the ERR γ gene in regulating its expression. Therefore, the shortest alleles of this polymorphism with 6 and 7 repeats of AAAG may be useful as a biomarker for breast cancer prognosis.

Key words: Estrogen Related Receptor Gamma; Breast Neoplasms; Polymorphism, Genetic

* **Padideh Karimi, PhD Student**
Department of Biology, Faculty of Sciences, University of Isfahan, Hezar-Jarib, Isfahan, Iran
Email: karimi_padideh@yahoo.com
Submission Date: .29 .May. 2013 • Acceptance Date: 28.July. 2013

Archive of SID

www.SID.ir