مقاله پژوهشی

مجله دانشکده پزشکی اصفهان
سال بیست و ششم/شماره ۸۸/بهار ۱۳۸۷

ارتباط بین طول توالی تکراری CA در اینترون I ژن گیرنده‌ی فاکتور رشد اپی‌درمی (EGFR) با خطر ابتلا به سرطان پستان و سن شروع آن

محمد سعید جامی*، دکتر منوچهر توسلی**، دکتر سیمین همتی***

* دانشجو، گروه زیست شناسی، دانشکده علوم، دانشگاه اصفهان
** استادیار گروه زیست شناسی، دانشکده علوم، دانشگاه اصفهان
*** استادیار پرتودرمانی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان

تاریخ دریافت: ۸۶/۵/۸
تاریخ پذیرش: ۸۶/۱۱/۶

چکیده

مقدمه: فاکتور رشد اپی‌درمی (EGFR) موسوم به ErbB1 یا HER1 یکی از اعضای مهم خانواده‌ی پروتوانکوژن‌های ErbB است. این ژن رمز کننده و گیرنده‌ی تیروزین کینازی است که نقشی کلیدی در رشد و تمایز سلول ایفا می‌کند. هدف این پژوهش، بررسی پلی‌مورفیسم میکروستلایت CA در اینترون I، ژن EGFR در بین مبتلایان به سرطان پستان و افراد سالم و ارتباط آن با خطر ابتلا، سن و درجه‌ی پیشرفت سرطان پستان بود.

روش‌ها: پژوهش حاضر بر روی ۱۰۸ نفر بیمار و ۱۰۸ نفر شاهد انجام شد. پس از استخراج DNA از خون، توالی مورد نظر توسط تکنیک PCR تکثیر گردید و تعداد تکرار CA به وسیله‌ی الکتروفورز بر روی ژل پلی‌اکریل آمید و تعیین توالی به دست آمد.

یافته‌ها: زنان با دو توالی کوتاه CA (کوچک‌تر از ۱۹) زمینه‌ی بیشتری برای ابتلا به سرطان پستان دارند (OR=۱/۸)، همچنین خطر ابتلای آنان به سرطان پیش از سن ۵۵ سالگی، ۳/۳ مرتبه بیشتر از زنانی است که طول توالی تکراری آنها بزرگ‌تر از ۱۹ می‌باشد (OR=۳/۳).

نتیجه‌گیری: یافته‌ها نشان داد که در جمعیت ساکن در منطقه‌ی اصفهان، کاهش تعداد تکرار CA در اینترون I ژن گیرنده‌ی فاکتور رشد اپی‌درمی، از یک سو منجر به افزایش خطر ابتلا به سرطان پستان و از سوی دیگر موجب بروز بیماری در سنین پایین‌تر می‌گردد.

واژگان کلیدی: گیرنده‌ی فاکتور رشد اپیدرمی، میکروستلایت CA، سرطان پستان

تعداد صفحات: ۹
تعداد جدول‌ها: ۴
تعداد تصاویر: ۱
تعداد منابع: ۲۰

آدرس نویسندهٔ مسئول: دکتر منوچهر توسلی، استادیار گروه زیست شناسی، دانشکده‌ی علوم، دانشگاه اصفهان، اصفهان، ایران
E-mail: manoochehr@biol.ui.ac.ir

Archive of SID

www.SID.ir

مقدمه

در ۵۰ سال اخیر، سرطان پستان در بیشتر جوامع بشری به مشکلی جدی تبدیل شده است. به طوری که تقریباً از هر ۹ زن یک نفر در طول زندگی خود به این بیماری مبتلا می‌شود (۱).در کشورهای صنعتی مثل آمریکای شمالی و اروپا، سرطان پستان در زنان شایع‌ترین نوع سرطان است. آمارهای منتشر شده نشان می‌دهند که سالانه بیش از یک میلیون نفر در جهان به این بیماری مبتلا می‌شوند و از این تعداد ۴۰۰۰۰۰ نفر جان خود را از دست می‌دهند (۲). با این حال در ژاپن و سایر کشورهای خاور دور مانند ویتنام، شیوع کلی این بیماری نسبت به کشورهای غربی بسیار کم‌تر است. برای مثال میزان ابتلای زنان ژاپنی پنج بار کم‌تر از زنان آمریکایی است (۴-۳).

بر اساس پژوهش‌های انجام شده در سال‌های اخیر، سرطان پستان فراوان‌ترین نوع سرطان در میان زنان ایران به شمار می‌آید. مقایسه‌ی آمارهای جدید با گزارش‌های پیشین، نشانگر افزایش به نسبت سریع میزان بروز این بیماری در زنان کشورمان می‌باشد. در حال حاضر مرگ و میر ناشی از این بیماری کم‌تر از شیوع آن بوده، از هر ۱۸-۱۰ زن سرانجام یک نفر فوت می‌کند. از این رو، سرطان سینه در سنین ۵۰-۳۵ سالگی شایع‌ترین علت مرگ زنان به حساب می‌آید (۶-۵).

خانواده‌ی ErbB یک زیر رده از رسپتورهای تیروزین کینازی (RTKs) است که دارای چهار عضو شامل EGFR (ErbB1/HER1)، ErbB2 (HER2/neu)، ErbB3 (HER3) و ErbB4 (HER4) می‌باشد. اتصال لیگاند به رسپتورهای ErbB موجب می‌شود که این رسپتورها ساختاری همودیمر و یا هترودیمر به خود گیرند، در نتیجه ناحیه‌ی درون سلولی آنها که دارای فعالیت کینازی است فعال شده، هر رسپتور، آمینواسیدهای تیروزین واقع در C انتهایی رسپتور دیگر را در ناحیه‌ی درون سلولی فسفریله کند. این مناطق فسفریله جایگاه اتصال بسیاری از پروتئین‌هایی است که در فعال‌سازی و کنترل چندین مسیر انتقال پیام نقش دارند (۸-۷).

وقتی EGFR فعال می‌شود، بسیاری از فرآیندهای سلولی از قبیل تکثیر سلولی، تمایز، مهاجرت، چسبندگی، محافظت در برابر آپوپتوز و تحریک رگ‌زایی آغاز می‌گردد (۱۱-۹). بررسی‌هایی در خصوص ژن EGFR در بسیاری از سلول‌های طبیعی اپی‌درمی در انسان انجام شده است، ولی درباره‌ی نقش این ژن، در بروز برخی از سرطان‌ها نظیر سر و گردن، پستان، ریه، مثانه، کولورکتال و پروستات بزرگ‌نمایی می‌شود (۱۲). استفاده از آنتی‌بادی‌های منوکلونال (mAbs) ضد EGFR در بیماران سرطانی، مانع از رشد سلول‌های سرطانی می‌گردد (۱۴-۱۳). به همین دلیل از حدود بیست سال پیش ژن EGFR به عنوان هدف مناسبی در درمان سرطان مطرح و بررسی شده است.

ژن EGFR دارای تعداد زیادی نواحی میکروستلایت می‌باشد. در این پژوهش پلی‌مورفیسم میکروستلایت CA repeat در اینترون شماره‌ی ۱ ژن EGFR در بین مبتلایان به سرطان پستان و افراد شاهد مورد بررسی قرار گرفت. از آن جا که بین طول توالی تکراری CA و میزان نقش EGFR رابطه‌ی معکوس وجود دارد (۱۵)، می‌توان بر تأثیر EGFR در بروز سرطان تأکید نمود. وجود اختلاف معنی‌دار در طول توالی تکراری CA در بین بیماران و افراد شاهد، می‌تواند دیدگاه تازه‌ای را در اتیولوژی و انتخاب روش

Archive of SID
www.SID.ir

مناسب در درمان بیماران مبتلا به سرطان پستان ارائه دهد. این بررسی در منطقه‌ی اصفهان انجام شد؛ لازم به یادآوری است که بر پایه‌ی گزارش کشوری و ثبت موارد سرطان در سال‌های (۸۴-۱۳۸۲)، سرطان پستان در منطقه‌ی اصفهان تا حدودی شیوع بالایی دارد.

روش‌ها

این پژوهش با همکاری بخش آزمایشگاهی بیمارستان حضرت سیدالشهدای شهر اصفهان در گروه زیست‌شناسی دانشکده‌ی علوم دانشگاه اصفهان انجام گردید. نمونه‌گیری از خون ۱۰۸ زن مبتلا به سرطان پستان و ۱۰۸ زن سالم در سنین بین۳۷ تا ۷۴ سال انجام شد. DNA ژنومی از سلول‌های خونی افراد مورد آزمایش به روش رسوب نمکی (Salting out) استخراج گردید (۱۶) و سپس توسط روش‌های اسپکتروفتومتری مورد ارزیابی کمی و کیفی قرار گرفت.

توالی تکراری CA، به وسیله‌ی تکنیک PCR با استفاده از پرایمرهای گزارش شده‌ی قبلی (۱۷) انجام شد.

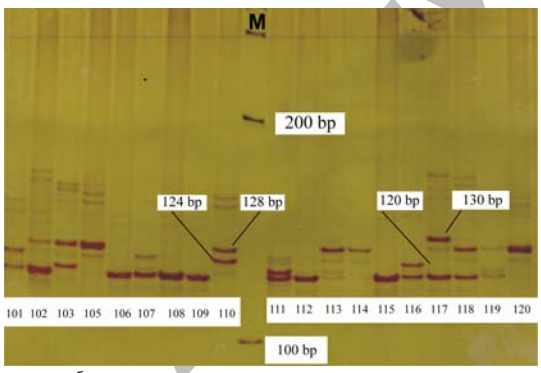
Forward: 5' GTTTGAAGAATTTGAGCCAACC 3'
Reverse: 5' GTGCCAAGTGTGCAGACAGAA 3'

صحت محصولات PCR ابتدا به وسیله‌ی ژل آگارز ۲٪ تأیید شد و سپس برای تعیین دقیق طول محصولات از روش الکتروفورز عمودی ژل پلی‌اکریل آمید ۱۰٪ استفاده گردید. ژل به روش نیترات نقره رنگ‌آمیزی شد و نتایج توسط اسکنر ثبت گردید. پس از مشاهده‌ی پلی‌مورفیسم طولی در محدوده‌ی ۱۳۰bp-۱۱۶، چهار الل مختلف برای انجام عملیات تعیین توالی به طور جداگانه از ژل پلی‌اکریل آمید به روش انجماد-ذوب، استخراج و توالی آن تعیین گردید. پس از تعیین تعداد تکرار دی‌نوکلئوتید CA در این نمونه‌ها، از آنها به عنوان نشانه‌ی مخصوص الل برای تعیین دقیق تعداد تکرار CA در سایر نمونه‌ها استفاده شد.

بررسی‌های آماری توسط نرم‌افزار SISA و SPSS (SPSS, Inc. Chicago, IL) انجام شد. نخست میزان فراوانی اللها و ترکیبات اللی در افراد تحت بررسی محاسبه شد و با توجه به فراوانی ترکیبات آنها، در دو گروه کوتاه‌تر از ۱۹ تکرار (S) و ۱۹ تکرار و بلندتر (L) و ترکیبات اللی در سه گروه ژنوتیپی LL، SL و SS تقسیم شدند. سپس ارتباط هر یک از ژنوتیپ‌ها با فاکتورهای مختلف، توسط آزمون‌های مربع کای پیرسون (χ^2) و Odds Ratio (OR) مورد بررسی قرار گرفت.

یافته‌ها

با توجه به توانایی کم ژل آگارز در جداسازی، برای اندازه‌گیری دقیق تعداد تکرارهای توالی CA درون اینترون I ژن EGFR، بررسی‌های بعدی محصول PCR بر روی ژل پلی‌اکریل آمید۱۰٪ انجام شد (شکل ۱).



شکل ۱. نتایج بهینه‌سازی شده PCR بر روی ژل اکریل آمید ۱۰٪. اندازه‌های متفاوت اللها نشان دهنده‌ی اختلاف در تعداد تکرار دی‌نوکلئوتید CA در افراد مختلف است. همچنین افراد هموزیگوت و هتروزیگوت به خوبی قابل تشخیص هستند. در این جا علاوه بر مارکر 100 bp DNA Ladder (M)، از محصول PCR نمونه‌های ۱۱۷ و ۱۱۰ پس از تعیین توالی، به عنوان مارکر مخصوص الل استفاده شد.

Archive of SID
www.SID.ir

همان طور که در شکل ۱ مشاهده می‌شود، نمونه‌ی شماره‌ی ۱۱۷ و نمونه‌ی شماره‌ی ۱۱۰ برای ایفای نقش علامت مخصوص الل مناسب هستند؛ چرا که نمونه‌ی شماره‌ی ۱۱۷ دارای دو الل با حداکثر اختلاف طول یا به عبارت دیگر، دارای الل‌هایی با بلندترین و کوتاه‌ترین طول در بین نمونه‌های تحت بررسی می‌باشد. از سوی دیگر نمونه‌ی شماره‌ی ۱۱۰ دارای دو الل هتروزیگوت، با طولی مابین دو الل نمونه‌ی شماره‌ی ۱۱۷ است. بنابراین چنانچه طول دقیق این چهار الل به وسیله‌ی تعیین توالی مشخص شود می‌توان از آنها به عنوان علامت‌های اختصاصی برای تخمین تعداد توالی‌های تکراری CA موجود در سایر الل‌ها استفاده کرد. در جدول ۱ نتایج مربوط به تعیین توالی این نمونه‌ها گنجانده شده است.

جدول ۱. توالی مربوط به هر کدام از الل‌های دو نمونه‌ی ۱۱۷ و ۱۱۰

نمونه	تعداد تکرار CA	طول قطعه	توالی نوکلئوتیدها
۱۱۷	۲۱	۱۳۰	5'gtttgaagaatttgagccaaccaaaatattaaacctgtcttaCACCACACACACAACACACACACACACACACACACACACACACACACACACggattgctgtccctggttcaagtgtgccaagtgtgcagacagaa 3'
	۱۶	۱۲۰	5'gtttgaagaatttgagccaaccaaaatattaaacctgtcttaCACACACACACACACACACACACACACACACACACACACACggattgctgtccctggttcaagtgtgccaagtgtgcagacagaa 3'
۱۱۰	۲۰	۱۲۸	5'gtttgaagaatttgagccaaccaaaatattaaacctgtcttaCACCACACACAACACACACACACACACACACACACACACACACACACggattgctgtccctggttcaagtgtgccaagtgtgcagacagaa 3'
	۱۸	۱۲۴	5'gtttgaagaatttgagccaaccaaaatattaaacctgtcttaCACCACAACACACACACACACACACACACACACACACACACACACggattgctgtccctggttcaagtgtgccaagtgtgcagacagaa 3'

نمونه‌ی شماره‌ی ۱۱۷ دارای دو الل ۱۶ و ۲۱ تکرار، به ترتیب به طول ۱۲۰ و ۱۳۰ جفت باز و نمونه‌ی شماره‌ی ۱۱۰ دارای دو الل ۱۸ و ۲۰ تکرار به ترتیب به طول ۱۲۴ و ۱۲۸ جفت باز می‌باشد.

بررسی فراوانی اللی، فراوانی ترکیبات اللی و فراوانی ژنوتیپ‌ها:

در این پژوهش ۷ الل مختلف برای تعداد تکرار CA در اینترون شماره‌ی I ژن EGFR، در محدوده‌ی ۲۱-۱۴ تکرار تعیین شد. از بین این الل‌ها، الل ۱۶ تکرار، بیشترین فراوانی را در بین بیماران (۴۶/۳٪) و افراد شاهد (۳۹/۴٪) به خود اختصاص داد. به این ترتیب در میان کل افراد مورد بررسی الل ۱۶ تکرار فراوان‌ترین (۴۲/۸٪) الل بود و الل ۱۴ تکرار کم‌ترین فراوانی را در افراد بیمار (۰/۴۶٪) و افراد شاهد (۰٪) داشت. همچنین الل‌های کوتاه ۱۴ تا ۱۸ تکرار در بین بیماران فراوانی بیشتری داشتند، در حالی که الل‌های بلند ۱۹ تا ۲۱ تکرار در بین افراد شاهد بیشتر دیده شد. در جدول ۲ فراوانی هر الل در بین افراد مورد آزمایش، خلاصه شده است.

جدول ۲. فراوانی الل‌های مختلف در بین بیماران، افراد شاهد و کل افراد مورد آزمایش

الل	فراوانی در بیماران (٪)	فراوانی در افراد شاهد (٪)	فراوانی در کل افراد مورد بررسی
۱۴	۰/۴۶	۰	۰/۲۳
۱۶	۴۶/۳	۳۹/۴	۴۲/۸
۱۷	۵/۱	۳/۷	۴/۴
۱۸	۱۲/۵	۱۱	۱۱/۸
۱۹	۱/۸	۲/۷	۲/۳
۲۰	۳۰	۳۵/۶	۳۲/۶
۲۱	۴/۱	۶/۵	۵/۳
جمع	۱۰۰	۱۰۰	۱۰۰

Archive of SID
www.SID.ir

همچنین در افراد مورد بررسی، ۱۶ ترکیب اللی (ژنوتیپ) مختلف مشاهده شد. لیکن نتایج نشان داد که ترکیب اللی ۱۶/۱۶ بیشترین فراوانی را، هم در بیماران (۲۵٪) و هم در افراد شاهد (۲۰/۳۷٪)، به خود اختصاص داده است. همچنین ترکیبات اللی ۱۴/۱۸ و ۱۷/۲۱ فقط در بیماران و ترکیبات اللی ۱۷/۱۹ و ۲۱/۲۱ فقط در افراد شاهد دیده شد. در جدول ۳ میزان توزیع فراوانی هر ترکیب اللی در بین بیماران و افراد شاهد خلاصه شده است.

جدول ۳. فراوانی و درصد انواع ترکیبات اللی مشاهده شده در بین بیماران و افراد شاهد

ژنوتیپ	تعداد تکرار CA		بیمار		کنترل	
	الل ۱	الل ۲	تعداد	درصد	تعداد	درصد
SS	۱۴	۱۸	۱	۰/۹۳	۰	۰
	۱۶	۱۶	۲۷	۲۵	۲۲	۲۰/۳۷
	۱۶	۱۷	۵	۴/۶۳	۳	۲/۷۷
	۱۶	۱۸	۱۴	۱۲/۹۶	۱۰	۹/۲۶
SL	۱۶	۱۹	۳	۲/۷۸	۲	۱/۸۵
	۱۶	۲۰	۱۹	۱۷/۵۹	۲۰	۱۸/۵۲
	۱۶	۲۱	۵	۴/۶۳	۶	۵/۵۵
	۱۷	۱۹	۰	۰	۱	۰/۹۳
	۱۷	۲۰	۵	۴/۶۳	۴	۳/۷
	۱۷	۲۱	۱	۰/۹۳	۰	۰
	۱۸	۲۰	۱۱	۱۰/۱۸	۱۲	۱۱/۱۱
	۱۸	۲۱	۱	۰/۹۳	۲	۱/۸۵
LL	۱۹	۲۰	۱	۰/۹۳	۳	۲/۷۸
	۲۰	۲۰	۱۳	۱۲/۰۴	۱۷	۱۵/۷۴
	۲۰	۲۱	۲	۱/۸۵	۴	۳/۷
	۲۱	۲۱	۰	۰	۱	۰/۹۳
کل			۱۰۸	۱۰۰	۱۰۸	۱۰۰

S: الل‌هایی که تعداد تکرار CA در آنها کم‌تر از ۱۹ است.
L: الل‌هایی که تعداد تکرار CA در آنها ۱۹ و یا بیشتر می‌باشد.

بررسی ارتباط ژنوتیپ با خطر ابتلا، درجه‌ی پیشرفت، توارث و سن شروع سرطان پستان:

آزمون مربع کای پیرسون (χ^2) نشان داد که طول توالی CA در بین بیماران و افراد شاهد اختلاف معنی‌دار دارد (p=۰/۰۴۲۷، CI٪۹۵=۱/۰۱۹۳-۴/۶۷۱۴ و OR=۱/۸۶۲). بدین ترتیب نشان داده شد که هموزیگوت‌های SS استعداد بیشتری برای ابتلا به سرطان پستان دارند؛ به عبارت دیگر، در زنان اصفهان با کاهش تعداد تکرار توالی دی‌نوکلئوتیدی CA در اینترون I ژن EGFR، خطر ابتلا به سرطان پستان افزایش می‌یابد.

در این پژوهش پس از استخراج اطلاعات مربوط به نوع تومور و درجه‌ی پیشرفت تومور از پرونده‌ی بیماران، وجود و یا عدم ارتباط طول توالی تکراری CA با درجه پیشرفت تومور با آزمون مربع کای بررسی شد. این نتایج نشان داد که درجه‌ی پیشرفت تومور در بین بیماران ما ارتباطی با اختلاف بین طول توالی CA ندارد (p=۰/۷۵۷۹، CI٪۹۵=۰/۳۶۴-۴/۰۱۱۳ و O=۱/۲۰۸۳).

در مرحله‌ی بعد، ارتباط بین نوع ژنوتیپ و وجود یا عدم سابقه‌ی ابتلا به سرطان در بستگان درجه‌ی یک نیز مورد تجزیه و تحلیل‌های آماری قرار گرفت. لیکن آزمون مربع کای (p=۰/۰۶۴) و آزمون نسبت افزاینده (CI٪۹۵=۰/۲۴۴۱-۲/۹۷۱۴ و OR=۰/۸۶۸)، هیچ کدام اختلاف معنی‌داری در میان بیماران دارای سابقه‌ی فامیلی و بیماران فاقد سابقه‌ی فامیلی نشان ندادند.

سرانجام وجود یا عدم ارتباط بین تعداد تکرار CA و سن شروع سرطان پستان مورد بررسی قرار گرفت. بدین منظور اطلاعات مربوط به سن شروع بیماری از پرونده‌ی همه‌ی بیماران با ژنوتیپ SS و LL استخراج و تجزیه و تحلیل گردید. آزمون مربع کای نشان داد که

Archive of SID
www.SID.ir

اختلاف بین طول توالی CA در بین بیمارانی که در سن زیر ۵۵ سالگی به سرطان پستان مبتلا شده‌اند با بیمارانی که در سن ۵۵ سالگی و بالاتر مبتلا شده‌اند معنی‌دار است (p=۰/۰۳۸۲، CI٪۹۵=۱/۰۳۶۹–۱۰/۹۰۵ و OR=۳/۳۶۲۶). بنابراین در منطقه‌ی اصفهان سن ابتلا به سرطان پستان در افراد دارای ژنوتیپ SS نسبت به افراد دارای ژنوتیپ LL پایین‌تر است. در جدول ۴ نتایج آزمون‌های آماری بالا، خلاصه شده است.

جدول ۴. بررسی ارتباط طول توالی تکراری CA وخطر ابتلا به سرطان پستان

	Odds-Ratio			آزمون χ^2 (α=5%, df=1)
فاکتور	فاصله‌ی اطمینان CI%۹۵	میزان OR	P	آماره آزمون
خطر ابتلا	۱/۰۱۹۳–۴/۶۷۱۴	۱/۸۶۲	۰/۰۴	۴/۱۰
درجه‌ی پیشرفت	۰/۳۶۴–۴/۰۱۱۳	۱/۲۰۸۳	۰/۷۵	۰/۰۹
توارث	۰/۲۴۴۱–۲/۹۷۱۴	۰/۸۶۸	۰/۸۰	۰/۰۶
سن شروع	۱/۰۳۶۹–۱۰/۹۰۵	۳/۳۶۲۶	۰/۰۳	۴/۲۹

بحث

این پژوهش که برای اولین بار در ایران انجام شده است، الگوی پراکندگی و فراوانی الل‌ها و ژنوتیپ‌های مختلف را در منطقه‌ی اصفهان نشان داد. در سال ۲۰۰۳، Liu و همکاران به بررسی فراوانی الل‌های مختلف برای تعداد تکرار CA در نژادهای گوناگون پرداختند (۱۸). در این پژوهش ۱۸۳ سفید پوست، ۸۴ سیاه پوست و ۶۶ آسیایی (آسیای شرقی و جنوب شرقی) مورد آزمایش قرار گرفتند. آنها توانستند ۱۰ نوع الل مختلف را در محدوده‌ی ۲۲–۹ تکرار در بین ۳۳۳ نفر تعیین و فراوانی هر الل را مشخص نمایند. این پژوهشگران نشان دادند که فراوانی الل ۲۰ در بین آسیایی‌ها (۶۳٪) بسیار بیشتر از سفید پوستان (۲۱٪) و سیاه پوستان (۱۴٪) است. در مقابل، فراوانی الل ۱۶ تکرار در سفید پوستان (۴۳٪) و سیاه پوستان (۴۲٪)، خیلی بیشتر از آسیایی‌ها (۱۷٪) است. همچنین Kang و همکاران در سال ۲۰۰۴ نشان دادند که در جمعیت پورتوریکو (آمریکای جنوبی)، الل ۱۶ بیشترین فراوانی را دارد (۳۲٪) و فراوانی الل ۲۰، ۲۴٪ می‌باشد (۱۹).

یافته‌های یاد شده نشان می‌دهد که فراوانی الل ۱۶ در جمعیت اصفهان تقریباً مشابه با جمعیت پورتوریکو می‌باشد و بسیار بیشتر از آسیایی‌ها است. لیکن فراوانی الل ۲۰ در جمعیت اصفهان کم‌تر از آسیایی‌ها ولی بیشتر از سفید پوستان و سیاه پوستان و ساکنان پورتوریکو می‌باشد. بنابراین می‌توان نتیجه گرفت که فراوانی الل‌ها در مناطق جغرافیایی مختلف متفاوت است. لیکن هرچه از مناطق آفریقایی و اروپایی به سوی خاور دور نزدیک‌تر شویم، فراوانی الل‌های کوتاه کم‌تر و فراوانی الل‌های بلند بیشتر می‌شود.

در این پژوهش، یافته‌ها نشان داد که در جمعیت منطقه‌ی اصفهان، کاهش تعداد تکرار CA در اینترون I ژن گیرنده‌ی فاکتور رشد اپی‌درمی (EGFR)، منجر به افزایش خطر ابتلا به سرطان پستان می‌شود. Kang و همکاران نیز در سال ۲۰۰۴ اثر پلی‌مورفیسم، این میکروستلایت را بر خطر ابتلا به سرطان حفره‌ی دهانی در جمعیت پورتوریکو بررسی نمودند و نشان دادند که افراد دارای الل‌های کوتاه در معرض خطر بیشتری برای ابتلا به سرطان حفره‌ی دهانی می‌باشند (CI٪۹۵=۱–۳/۵ و OR=۱/۹) (۱۹). لیکن Brandt و همکاران، هیچ گونه ارتباط مستقیمی میان تعداد تکرار CA در اینترون I ژن EGFR و خطر ابتلا به سرطان پستان مشاهده نکردند. آنها دریافتند که کاهش تعداد تکرار CA در کسانی که مصرف گوشت قرمز در

Archive of SID
www.SID.ir

جیره‌ی غذایی آنها بالااست منجر به افزایش خطر ابتلا به سرطان پستان می‌شود (CI٪۹۵=۱/۵۷–۷۲/۵۸ و OR=۱۰/۶۸) (۱۷). Welnicka و همکاران نیز که در سال ۲۰۰۶ چنین پژوهشی را بر روی جمعیت لهستان انجام دادند، هیچ گونه ارتباطی میان تعداد تکرار CA در اینترون I ژن EGFR و خطر ابتلا به سرطان پستان مشاهده ننمودند (۲۰).

Brandt و همکاران در پژوهش خود بر روی بیماران آلمانی توانستند به وجود یک رابطه‌ی قوی میان ژنوتیپ LL (دارای دو الل ۱۹ تکرار CA) و داشتن سابقه‌ی ابتلا به سرطان پستان در بستگان درجه‌ی یک، آگاه شوند (CI٪۹۵=۱/۸۵–۵۸/۷ و OR=۱۰/۴). این پژوهشگران نشان دادند که در میان هموزیگوت‌های LL، کسانی که دارای سابقه‌ی ابتلا به سرطان پستان در بستگان درجه‌ی یک خود می‌باشند، در معرض خطر بیشتری برای ابتلا به سرطان پستان قرار دارند (۱۷)؛ در پژوهش حاضر چنین ارتباطی دیده نشد.

در این پژوهش برای اولین بار نشان داده شد که سن ابتلا به سرطان پستان در افراد دارای ژنوتیپ SS نسبت به افراد دارای ژنوتیپ LL پایین‌تر است.

تقدیر و تشکر

از حمایت مالی مدیریت تحصیلات تکمیلی دانشگاه اصفهان برای انجام این پژوهش تشکر و قدردانی می‌شود.

منابع

1. Peto R, Boreham J, Clarke M, Davies C, Beral V. UK and USA breast cancer deaths down 25% in year 2000 at ages 20-69 years. Lancet 2000; 355(9217):1822.
2. Lipworth L. Epidemiology of breast cancer. Eur J Cancer Prev 1995; 4(1):7-30.
3. Sondik EJ. Breast cancer trends. Incidence, mortality, and survival. Cancer 1994; 74(3 Suppl):995-9.
4. Lin SS, Phan JC, Lin AY. Breast cancer characteristics of Vietnamese women in the Greater San Francisco Bay Area. West J Med 2002; 176(2):87-91.
5. Harirchi I, Ebrahimi M, Zamani N, Jarvandi S, Montazeri A. Breast cancer in Iran: a review of 903 case records. Public Health 2000; 114(2):143-5.
6. Ebrahimi M, Vahdaninia M, Montazeri A. Risk factors for breast cancer in Iran: a case-control study. Breast Cancer Res 2002; 4(5):R10.
7. Alimandi M, Romano A, Curia MC, Muraro R, Fedi P, Aaronson SA, et al. Cooperative signaling of ErbB3 and ErbB2 in neoplastic transformation and human mammary carcinomas. Oncogene 1995; 10(9):1813-21.
8. Beerli RR, Hynes NE. Epidermal growth factor-related peptides activate distinct subsets of ErbB receptors and differ in their biological activities. J Biol Chem 1996; 271(11):6071-6.
9. Mendelsohn J, Baselga J. Status of epidermal growth factor receptor antagonists in the biology and treatment of cancer. J Clin Oncol 2003; 21(14):2787-99.
10. Mendelsohn J. Targeting the epidermal growth factor receptor for cancer therapy. J Clin Oncol 2002; 20(18 Suppl):1S-13S.
11. Baselga J. Why the epidermal growth factor receptor? The rationale for cancer therapy. Oncologist 2002; 7 Suppl 4:2-8.
12. Yarden Y. The EGFR family and its ligands in human cancer. signalling mechanisms and therapeutic opportunities. Eur J Cancer 2001; 37 Suppl 4:S3-S8.
13. Sato JD, Kawamoto T, Le AD, Mendelsohn J, Polikoff J, Sato GH. Biological effects in vitro of monoclonal antibodies to human epidermal growth factor receptors. Mol Biol Med 1983; 1(5):511-29.
14. Gill GN, Kawamoto T, Cochet C, Le A, Sato JD, Masui H, et al. Monoclonal anti-epidermal growth factor receptor antibodies which are inhibitors of epidermal growth factor binding and antagonists of epidermal growth factor binding and antagonists of epidermal growth factor-stimulated tyrosine protein kinase activity. J Biol Chem 1984; 259(12):7755-60.
15. Gebhardt F, Zanker KS, Brandt B. Modulation of epidermal growth factor receptor gene transcription by a polymorphic dinucleotide repeat in intron 1. J Biol Chem 1999; 274(19):13176-80.
16. Miller SA, Dykes DD, Polesky HF. A simple salting out procedure for extracting DNA from

Archive of SID
www.SID.ir

human nucleated cells. Nucleic Acids Res 1988; 16(3):1215.
17. Brandt B, Hermann S, Straif K, Tidow N, Buerger H, Chang-Claude J. Modification of breast cancer risk in young women by a polymorphic sequence in the egfr gene. Cancer Res 2004; 64(1):7-12.
18. Liu W, Innocenti F, Chen P, Das S, Cook EH, Jr., Ratain MJ. Interethnic difference in the allelic distribution of human epidermal growth factor receptor intron 1 polymorphism. Clin Cancer Res 2003; 9(3):1009-12.
19. Kang D, Gridley G, Huang WY, Engel LS, Winn DM, Brown LM, et al. Microsatellite polymorphisms in the epidermal growth factor receptor (EGFR) gene and the transforming growth factor-alpha (TGFA) gene and risk of oral cancer in Puerto Rico. Pharmacogenet Genomics 2005; 15(5):343-7.
20. Welnicka-Jaskiewicz M, Zaczek A, Brandt B, Bielawski KP, Jaskiewicz J, Konopa K, et al. (CA)n microsatellite polymorphism of ERBB-1 in breast cancer. Eur J Cancer 2006; 42(12):1698-1701.

Archive of SID

www.SID.ir

Original Article

Journal of Isfahan Medical School
Vol 26, No 88, Spring 2008

Received: 30.7.2007
Accepted: 26.1.2008

Association of the Length of CA Dinucleotide Repeat in the Epidermal Growth Factor Receptor with Risk and Age of Breast Cancer Onset in Isfahan

Mohammad Saeid Jami*, Manoochehr Tavassolia PhD*
Simin Hemati MD**

* Student of Biology, Faculty of Science, University of Isfahan
** Assistant Professor of Biology, Faculty of Science, University of Isfahan
*** Assistant Professor of Radiotherapy, School of Medicine, Isfahan University of Medical Sciences

Abstract

Background: The epidermal growth factor receptor (EGFR) also known as HER1 or ErbB1 is a prominent member of the erbB proto-oncogene family, which encodes a receptor tyrosine kinase with a pivotal role in the regulation of cell growth and differentiation. The aim of this research was to study the CA repeat polymorphism in intron I of EGFR among the patients with breast cancer and healthy controls. We have also evaluated risks for breast cancer, age of onset and grade of tumor associated with the CA repeat polymorphism.

Methods: In the present work, the association of breast cancer with the polymorphic CA repeat in 108 cases of breast cancer and 108 matched controls was studied. After DNA extraction from blood, CA dinucleotide region was amplified by PCR technique and the number of CA repeats was determined by polyacrylamide gel electrophoresis and sequencing.

Findings: Our findings demonstrate that women with two short CA repeat (<19) are at a significantly higher risk of breast cancer, at an estimated odds ratio of 1.86. We have also found that women with short alleles (<19) had much greater risk of developing cancer before the age of 55 (OR=3.36).

Conclusion: Our results suggested that shorter CA repeat length may be associated not only with the risk of breast cancer but also with the age of developing cancer in Isfahanian population. We did not find any relation between the CA repeats length and tumor staging.

Key words: **Epidermal growth factor receptor, CA microsatellite, breast cancer**

Page count: 9
Tables: 4
Figures: 1
References: 20

Address of Correspondence: Manoochehr Tavassolia PhD. Assistant Professor of Biology, Faculty of Science, University of Isfahan, Isfahan, Iran.
E-mail: manoochehr@biol.ui.ac.ir

Archive of SID

www.SID.ir