Archive of SID

فصلنامه (علمی – پژوهشی)
زیست شناسی تکوینی
سال یازدهم، شماره ۳، تابستان ۱۳۹۸ ص. ۷۴-۶۱

مقاله پژوهشی

بررسی ارتباط سرطان سینه و پلی مورفیسم rs 3803662 از ژن *TOX3* درجمعیت زنان ایرانی با روش Tetra Arms PCR

الهام سیاسی*، بهاره قانع، فاطمه اشرفی

گروه ژنتیک، دانشکده علوم زیستی، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد تهران شمال، تهران، ایران

* Email: emi_biotech2006@yahoo.com

تاریخ دریافت: ۹۷/۰۹/۰۱ تاریخ پذیرش: ۹۸/۰۳/۲۰

چکیده

ژن *TOX3*نقش مهمی در خطر بروز سرطان سینه در زنان دارد. پلی مورفیسم‌هایی در این ژن شناسایی شده‌اند که می‌توانند با ایجاد سرطان سینه مرتبط باشند. هدف این مطالعه بررسی ارتباط سرطان سینه و پلی مورفیسم rs3803662 از ژن *TOX3* در جمعیت زنان ایرانی با روش Tetra Arms PCR بود. نمونه‌گیری از خون ۵۰ نفر فرد سالم و ۵۰ نفر بیمار مبتلا به سرطان سینه انجام شد. پس از استخراج ژنوم از نمونه‌ها فراوانی این پلی‌مورفیسم در ژن *TOX3* با روش Tetra Arms PCR بررسی شد. فراوانی ژنوتیپ‌های TT، TC و CC به ترتیب در افراد سالم 10% ، 88% و 2% و در بیماران 6%، 50% و 44% بدست آمد. بین فراوانی حضور ژنوتیپ هموزیگوت مغلوب CC از پلی مورفیسم rs3803662 در ژن *TOX3* بین افراد سالم و مبتلا به سرطان سینه اختلاف معنادار مشاهده شد ($P<0.05$). تحقیق حاضر برای اولین بار به بررسی ارتباط خطر ابتلا به سرطان پستان و حضور پلی‌مورفیسم rs3803662 از ژن *TOX3* در جامعه زنان ایرانی انجام گرفت. نتایج این پژوهش نشان داد که حضور پلی‌مورفیسم rs3803662 از ژن *TOX3* می‌تواند به عنوان مارکر ژنتیکی، با سرطان سینه در زنان ایرانی مرتبط باشد.

کلیدواژه‌ها: پلی مورفیسم rs3803662، ژن *TOX3*، سرطان سینه، Tetra Arms PCR.

مقدمه

سرطان پستان شایع‌ترین سرطان زنان در کشورهای پیشرفته و دومین سرطان شایع در ایران می‌باشد. میزان بروز سرطان پستان در نقاط مختلف دنیا متفاوت است و به علت دارا بودن رتبه دوم در علل مرگ ناشی از سرطان، به‌عنوان یکی از مشکلات سلامتی در سراسر دنیا از جمله ایران شناخته شده است. [۱۴]. عوامل ژنتیکی و اپی ژنتیکی یا عوامل محیطی که موجب اختلال در فعالیت سلول‌ها می‌شوند و در هسته سلول اشکال وارد کنند سبب

www.SID.ir

Archive of SID

این بیماری می‌شود [۱ و ۱۷]. سرطان پستان یک اختلال ژنتیکی از نوع هتروژن و ناهمگن است که در آن کنترل نرمال رشد سلول از بین رفته است. بنابراین نه تنها شناسایی راه درمان بلکه ارزیابی فاکتورهای ریسکی را نیز مشکل می‌سازد [۱۰]. ژنتیک سرطان هم اکنون یکی از تخصص‌های در حال گسترش است. در سطح مولکولی، سرطان به دلیل وقوع جهش یا جهش‌هایی در DNA اتفاق می‌افتد که باعث تکثیر بیش از حد سلول می‌شوند و بیشتر این جهش‌ها در سلول‌های سوماتیک رخ می‌دهند. جهش‌ها در دو گروه از ژن‌های سلولی مشاهده می‌شوند: اُنکوژن‌ها و ژن‌های سرکوب‌گر توموری [۲٤]. برخی جهش‌های ژنتیکی، شانس ابتلا به سرطان سینه را افزایش می‌دهند. برخی از این جهش‌ها هنوز در مراحل تحقیقاتی قرار دارند و هنوز به اثبات نرسیده‌اند. برخی هم در سطح قابل قبولی شناخته شده و قابل مهار هستند. از جمله ژن‌هایی که جهش در آن‌ها خطر بروز سرطان پستان را افزایش می‌دهد عبارتند از: *BRCA1*، *BRCA2*، *P53*، *HER2*، *CHEK2*، *ATM*، *EGFR*، *PTN*، *CDH1*، *PALB2*، *CTPA* و *RECQL* [۵]. یکی از ژن‌های مهم دیگری که به عنوان بیومارکر سرطان سینه شناخته می‌شود *ژن TOX* است. که شامل چند زیرخانواده *TOX4/TOX3/TOX2/TOX1* می‌باشد. این ژن یک پروآنکوژن بوده که به دلیل مضاعف شدگی و تکرار زیاد در کروماتین در سرطان پستان بیش از حد بیان می‌شود. این ژن بیشتر در حالت متاستاتیک و تهاجمی سرطان سینه به‌عنوان ریسک فاکتور شناسایی به کار می‌رود [۱۵]. البته قابل ذکر می باشد که ژن *TOX3 High Mobility Group Box Family Member 3*) نقش مهمی در تنظیم سلول های لنفوسیت T دارد. پروتئین کد شده توسط این ژن از زیرخانواده عوامل رونویسی است و در تغییردادن ساختمان کروماتین نقش دارد [۹]. جایگاه کروموزومی که در معرض جهش این ژن قرار دارد و اخیرا در معرض خطر ابتلا به سرطان پستان قرار گرفته است 16q12.1 می باشد و متشکل از ده اگزون است که در آن امکان بروز سه جهش Missense و یک جهش Deletion وجود دارد [۲]. مطالعات نشان داده است موتاسیون و پلی‌مورفیسم روی عملکرد *TOX3* در سرکوب تومور اثر می‌گذارد، بطوری که جهش و پلی مورفیسم در ژن *TOX3* با افزایش خطر ابتلا به سرطان پستان همراه است [۲۲ و ۲۳]. حضور پلی‌مورفیسم‌هایی در این ژن از جمله rs3803662، rs12443621 و rs8051542 با افزایش خطر ابتلا به سرطان پستان در ارتباط می‌باشد [۱۱ و ۱۳]. روش‌های متعددی برای بررسی SNP ها وجود دارد. یکی از کارآمدترین آن‌ها که در این مطالعه از آن استفاده شده است، روش Tetra ARMS-PCR می‌باشد. برتری این تکنیک نسبت به تکنیک‌هایی مانند SSCP، ARMS-PCR و PCR-RFLP عدم نیاز به آنزیم‌های محدود کننده و رادیوایزوتوپ‌ها می‌باشد. همچنین روش رایج و کم هزینه در تشخیص پلی‌مورفیسم‌ها می‌باشد.

هدف از این پژوهش بررسی ارتباط پلی‌مورفیسم rs3803662 در ژن *TOX3* با بیماری سرطان سینه در جمعیت زنان ایرانی با روش Tetra Arms PCR بود.

مواد و روش

۱- **نوع مطالعه و جامعه آماری**- در این مطالعه که بصورت موردی - شاهدی بود نمونه‌گیری از دو گروه بیمار و کنترل در بازه زمانی زمستان ۱۳۹۵ تا تابستان ۱۳۹٦ از بیمارستان شهید فیاض بخش کرج

www.SID.ir

Archive of SID

انجام شد. نمونه‌ها از تعداد ۵۰ خانم مبتلا به سرطان سینه که بوسیله معاینه پزشک متخصص زنان و زایمان و انجام ماموگرافی بیمار تشخیص داده شدند بوده و گروه کنترل ۵۰ نفر با جنسیت و سن مشابه افراد بیمار بدون هیچ گونه علایمی از بیماری، بودند.

۲- **روش نمونه‌گیری**- میزان ۵ سی سی از خون افراد گروه بیمار و افراد کنترل سالم در لوله‌های Venoject آماده با حجم 5CC (کمپانی graner/UK)، که حاوی مقدار مشخص ۱ سی سی از ضد انعقاد سیترات سدیم برای جلوگیری از لخته شدن خون و در پوش دار بودند، جمع آوری گردید. نمونه گیری از افراد به صورت خون وریدی – سیاهرگی انجام شده است و پس از انجام نمونه گیری و تا زمان رسیدن به آزمایشگاه نمونه های گرفته شده در جعبه حاوی یخ های پک شده نگهداری شدند .

۳- **استخراج DNA از نمونه‌های خون** – پس از انتقال خون حاوی سیترات سدیم به آزمایشگاه ، ژنوم هر یک از نمونه‌ها با استفاده از روش استخراج DNA با استفاده از کیت Cinnapure (که از شرکت سیناژن تهیه شده بود) جداسازی شد. قابل ذکر است که پس از استخراج DNA نمونه های مذکور در دمای ٤٠- تا ۷۰- نگهداری شدند .

٤- کیفیت و کمیت سنجی DNA استخراج شده

٤-۱- الکتروفورز بر روی آگارز – برای اطمینان از کیفیت سنجی DNA خالص شده، ۳ میکرولیتر از DNA بر روی ژل آگارز الکتروفورز شد.

٤-۲- تعیین غلظت DNA استخراج شده با استفاده از دستگاه نانودراپ- پس از استخراج DNA به منظور ارزیابی کمیت و کیفیت DNA و آگاهی از غلظت و درجه خلوص آن، از دستگاه نانو دراپ استفاده شد. ۱ میکرولیتر از DNA استخراج شده در دستگاه قرار داده شد و جذب نوری آن در طول موج‌های مختلف خوانده شد. نمونه‌هایی که نسبت جذب نوری ۲٦۰ به ۲۸۰ نانومتر بین ۱,۸ تا ۲,۱ و نسبت ۲٦۰ به۲۳۰ نانومتر ۱,۷ تا ۱,۹ را داشتند، برای ادامه کار مناسب تشخیص داده شدند.

۵- واکنش Tetra Arms PCR – برای انجام واکنش Tetra Arms PCR از پرایمرهای اختصاصی شامل ۱ جفت پرایمر خارجی و ۲ پرایمر داخلی برای هر یک از الل‌های غالب و مغلوب پلی‌مورفیسم rs3803662 ژن *TOX3*، که در جدول ۱ اورده شده است، استفاده شد (که با سفارش به شرکت تکاپوزیست تهیه شده بود). مواد مورد نیاز برای واکنش PCR (که تهیه شده از شرکت ویرا ژن (آمپلیکون المان) بود) و برنامه دستگاه PCR به ترتیب در جدول‌های ۲ و ۳ اورده شده است (لازم به ذکر است که برای تشکیل باند مناسب برای محصول PCR شرایط دمای اتصال (annealing) در محدوده ۵۵ تا ٦۸ درجه سانتی‌گراد و با روش Touch down PCR و شیب دمایی انجام شد که تعداد سیکل و درجه حرارت هر مرحله در جدول ۳ مشخص شده است). واکنش Tetra PCR Arms روش تکثیری قدرتمند برای مشخص کردن جهش‌های نقطه‌ای است. در این روش از پرایمرهای جهش‌یافته و طبیعی در دو میکروتیوب جداگانه استفاده می‌شود. اگر عمل پلیمریزاسیون در لوله حاوی پرایمر طبیعی انجام شود، نشان دهنده عدم جهش نقطه‌ای در باز مورد نظر است و اگر عمل پلیمریزاسیون در لوله حاوی پرایمر

www.SID.ir

Archive of SID

جهش یافته انجام شود، نشان دهنده حضور جهش نقطه ای در باز مورد نظر است.

جدول ۱- پرایمر های مورد استفاده برای تعیین پلی مورفیسم rs3803662 در ژن TOX3

نام پرایمرها برای تکثیر پلی مورفیسم مورد نظر	توالی ۳-۵	طول قطعه تکثیر یافته محصول PCR (bp)
rs3803662 در ژن TOX3		
Forward inner primer (C)	5-AGGTGACACTATAGAATACTCTCCTTAATGCCTCTATAGCTGTaC-3	259
Reverse inner primer (T)	5-GTACGACTCACTATAGGGACCACAGTTTTATTCTTCGCTAAcA-3	357
Forward outer primer	5-AGGTGACACTATAGAATAGTCCTTGGCTGTTCTGTGAa-3	622
Reverse outer primer	5-GTACGACTCACTATAGGGATCCCCAAGGAGACAAAGGTAa-3	585

جدول ۲- مواد مورد نیاز جهت انجام PCR (حجم ۲۰ میکرولیتر)

محتویات واکنش	حجم (میکرولیتر)	غلظت
Master Mix PCR 2x	۱۰	۱/۵ میلی مول/ MgCl2
Forward Primer	۱	۱۰ پیکو مول
Reverse Primer	۱	۱۰ پیکو مول
Sterile water	۵	-
DNA	۳	۱۰۰ نانوگرم

جدول ۳- برنامه دمایی PCR ویژه ژن *TOX3*

مراحل Annealing	زمان	دما (درجه سانتی‌گراد)	تعداد سیکل
-	۵ دقیقه	۹۵	۱ سیکل
Denaturation	۳۰ ثانیه	۹۵	۳ سیکل
Annealing	۳۰ ثانیه	٦٨	
Extention	٤٥ ثانیه	۷۲	
Denaturation	۳۰ ثانیه	۹۵	۱۰ سیکل
Annealing	۳۰ ثانیه	٦٦	
Extention	٤٥ ثانیه	۷۲	
Denaturation	۳۰ ثانیه	۹۵	۱۵ سیکل
Annealing	۳۰ ثانیه	٦٢	
Extention	٤٥ ثانیه	۷۲	
Denaturation	۳۰ ثانیه	۹۵	۲۰ سیکل
Annealing	۳۰ ثانیه	۵۸	
Extention	٤٥ ثانیه	۷۲	
Denaturation	۳۰ ثانیه	۹۵	۱۰ سیکل
Annealing	۳۰ ثانیه	۵۵	
Extention	٤٥ ثانیه	۷۲	
-	۱۰ دقیقه	۷۲	۱ سیکل

www.SID.ir

Archive of SID

٦- ارزیابی محصول PCR- برای ارزیابی محصول PCR، مقدار ۵ میکرولیتر از محصول PCR، هم زمان با شناساگر زیستی (۵۰ bp) برروی ژل اگاروز الکتروفورز شد. برای رنگ‌آمیزی از رنگ اتیدیوم بروماید استفاده گردید. سپس جهت مشاهده باندها ژل در دستگاه UV-Doc قرار داده شد و عکس برداری شد.

۷- تعیین اندازه قطعات تکثیر شده- برای تشخیص اندازه باند حاصل از PCR و اطمینان از تکثیر قطعه مورد نظر نیاز به استفاده از یک نشانگر اندازه یا سایز مارکر (Ladder) است. این نشانگر در کنار محصولات PCR در یکی از چاهک‌ها بارگذاری شد (با اندازه۵۰ bp). بعد از این که ژل رنگ‌آمیزی شد و درون دستگاه UV قرار داده شد، باندهای OUTER با اندازه ۵۲۵ bp (کنترل) و باندهای دو آلل T و C، به ترتیب با اندازه ۳۵۷ bp و ۲۵۹ bp بررسی شدند. قابل ذکر است که برای هر سری از نمونه‌ها از یک مارکر ۵۰ bp، یک کنترل مثبت که از نمونه‌های کاری بوده و حاوی تمامی ژن‌ها بود و از قبل با انجام سکانس تأیید شده بود و از آب مقطر به عنوان کنترل منفی، استفاده شد.

۸- تایید صحت نتایج ژنوتایپینگ- برای صحت عملکرد روش کار و به منظور تعیین سکانس و تأیید محصول PCR چندین نمونه از همو زیگوت غالب و هموزیگوت مغلوب و هتروزیگوت‌ها انتخاب شده و پس از خالص‌سازی با کیت سینا کلون، از طرف شرکت تکاپوزیست به کشور کره جنوبی (به شرکت بایونیر) برای تعیین توالی فرستاده شدند. تعیین توالی انجام شد و در نهایت بلاست انجام گرفت.

۹ - آنالیزهای آماری- جهت مطالعه و بررسی ارتباط حضور پلی‌مورفیسم rs3803662 در ژن *TOX3* و بروز سرطان سینه در بین نمونه‌های بیماران و گروه کنترل، از برنامه آماری SPSS با شماره ورژن ۲۳ با آزمون X^2 در سطح ۰,۰۵ برای بررسی تفاوت‌های فراوانی ژنوتیپی و آللی استفاده شد.

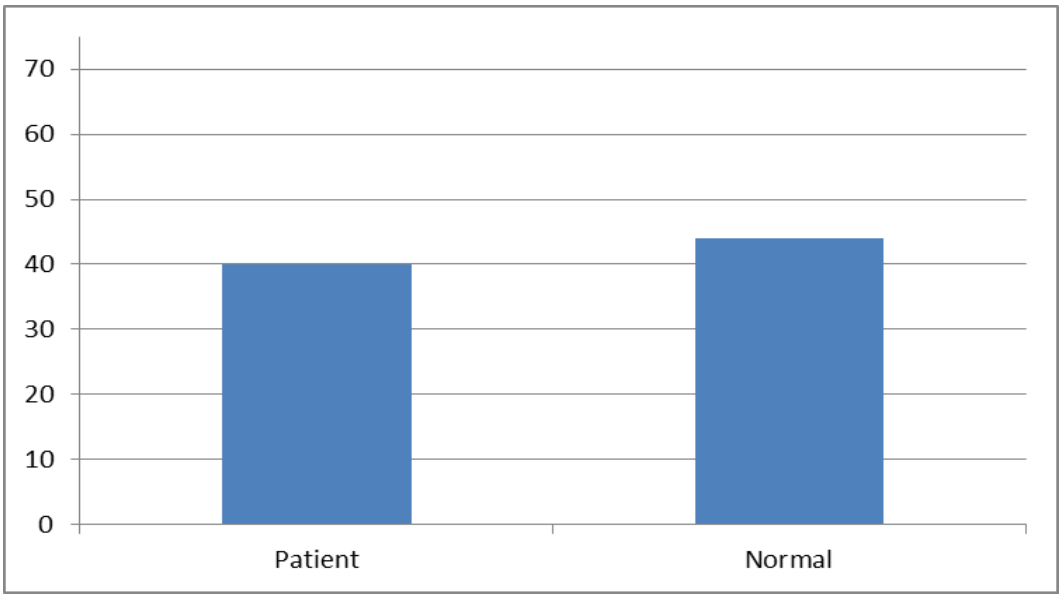
نتایج

۱- نمونه‌گیری و اطلاعات بیماران- برای انجام این پژوهش ۵۰ نمونه خون افراد بیمار و ۵۰ نمونه خون افراد سالم جمع‌آوری شد و استخراج DNA بر روی آن‌ها انجام شد. از نظر میانگین سنی، گروه بیمار و گروه نرمال بین ۳۰ تا ٦۰ سال بودند. میانگین سنی برای گروه بیمار ٤٤/١٦ و برای گروه نرمال ٤٠/٢٣ محاسبه شد که در دو گروه تقریبا یکسان بود (نمودار ۱). میانگین درجه پیشرفت تومور پستان در افراد بیمار محاسبه شد. افراد بیمار از همه نوع رنج پیشرفت تومور بوده است بیشترین افراد با گرید ۲ و کمترین افراد با گرید ٤ بودند.

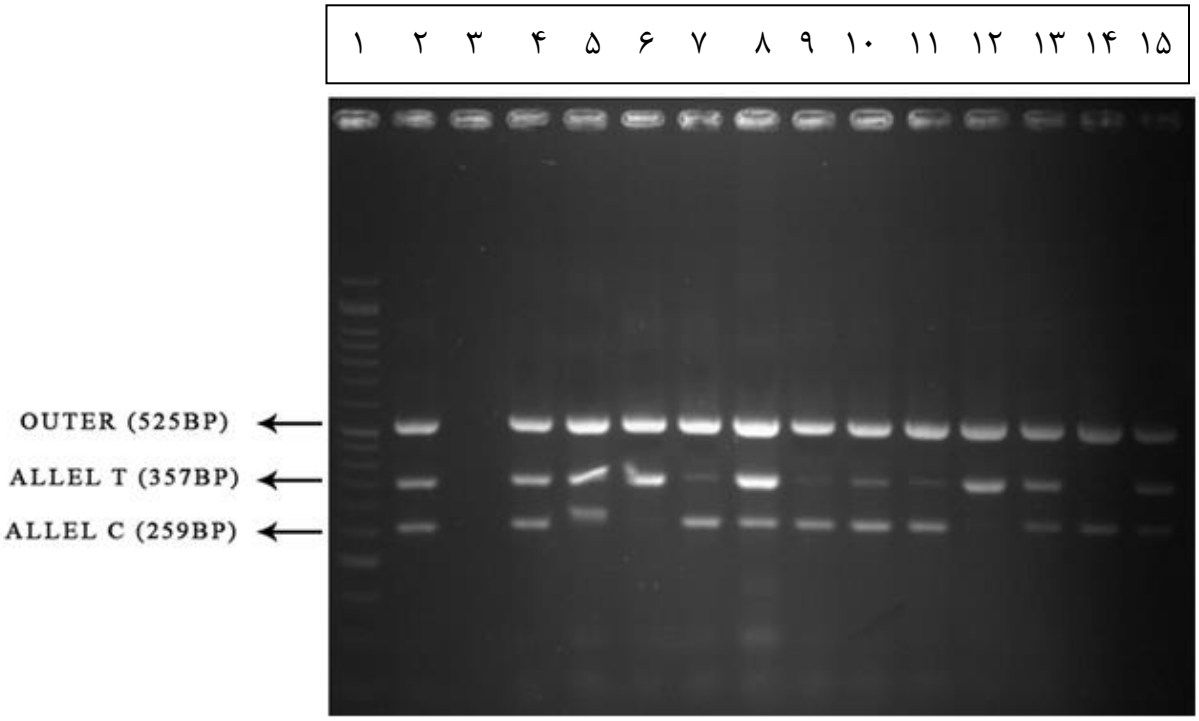
۲- نتایج محصول Tetra Arms PCR- پس از انجام کامل PCR و الکتروفورز، رنگ آمیزی با رنگ اتیدیوم برامید انجام شد. محصول بدست آمده با دستگاه UV duc خوانده شد. نتایج در شکل ۱ و ۲ آورده شده است.

www.SID.ir

Archive of SID



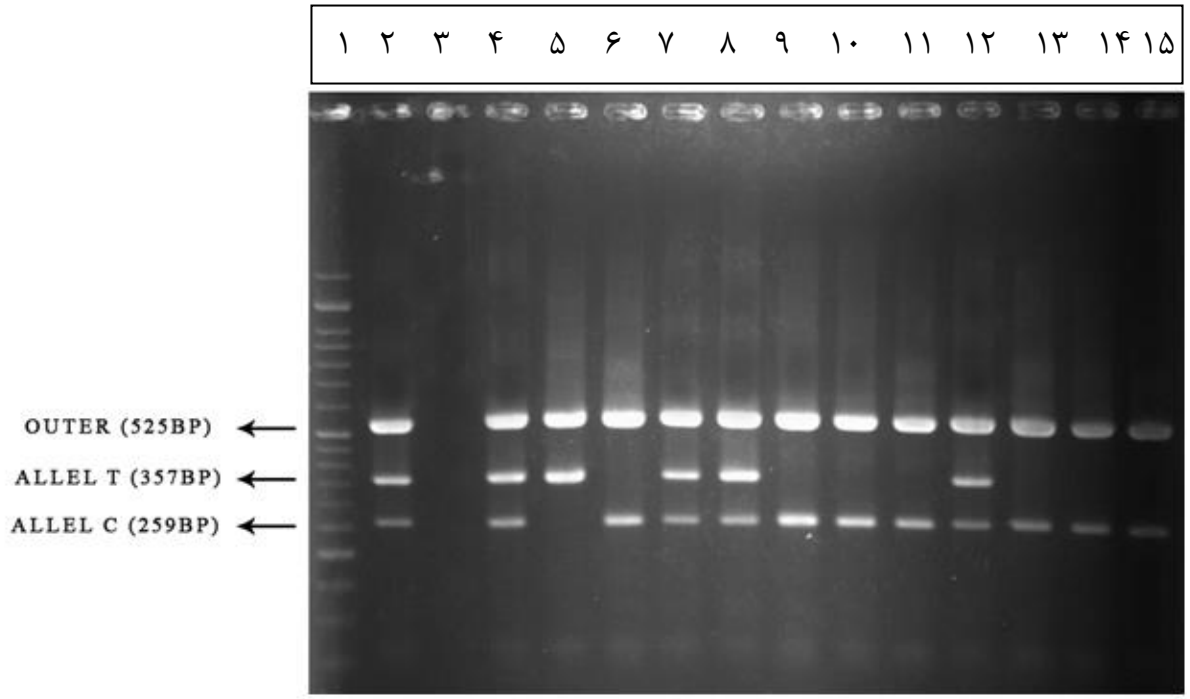
نمودار۱- میانگین سنی دو گروه بیمار و نرمال



شکل ۱- نمونه‌های ژنوتیپ های بررسی شده با Tetra Arms PCR در افراد سالم- به ترتیب از چپ به راست چاهک شماره ۱: نشانگر زیستی bp ۵۰، چاهک شماره ۲: نمونه کنترل مثبت و چاهک شماره ۳: نمونه کنترل منفی، چاهک‌های شماره ٤، ٥، ٧، ٨، ٩، ١٠، ١١، ١٣و ١٥: افراد هتروزیگوت (TC) با طول bp ۳۵۷ و۲۵۹ و چاهک‌های شماره ٦ و ١٢: افراد هموزیگوت غالب (TT) با طول bp ۳۵۷ و چاهک شماره ١٤: هموزیگوت مغلوب (CC) با طول bp ۲۵۹ می‌باشد.

www.SID.ir

Archive of SID



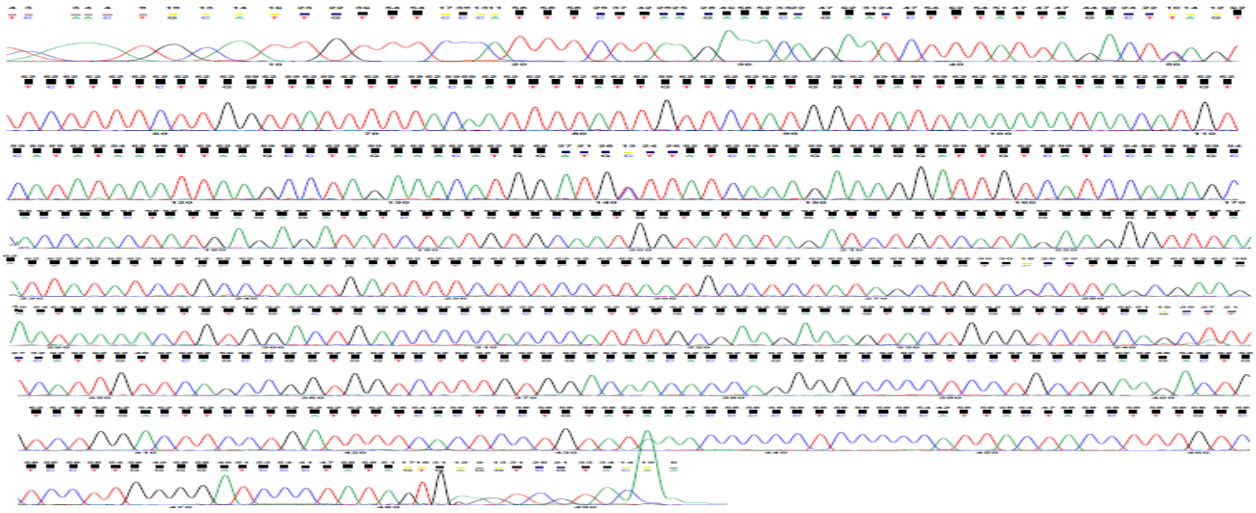
شکل ۲ – نمونه های ژنوتیپ های بررسی شده با Tetra Arms PCRدر افراد بیمار – به ترتیب از چپ به راست، چاهک شماره ۱ : نشانگر زیستی bp ۵۰ ، چاهک شماره ۲: نمونه کنترل مثبت و چاهک شماره ۳: نمونه کنترل منفی، چاهک های شماره ٤، ۷، ۸ و ۱۲: افراد هتروزیگوت (TC) با طول bp ۳۵۷ و bp ۲۵۹ و چاهک های شماره ۲ : فرد هموزیگوت غالب (TT) با طولbp ۳۵۷ و چاهک شماره ٦، ۹، ۱۰، ۱۱، ۱۳، ١٤ و ۱۵ : هموزیگوت مغلوب (CC) با طول bp ۲۵۹می باشد.

۳- تعیین توالی یابی به جهت تایید محصول حاصل از Tetra-Arms PCR- در مطالعه حاضر به‌منظور تایید محصول PCR از هر یک از حالت‌های هموزیگوت و هتروزیگوت به همراه پرایمرها، جهت سکانس از طریق شرکت تکاپو زیست به کشور کره ارسال شد. سپس نتایج توسط نرم‌افزار Mega آنالیز و بلاست شد تا حالت‌های هموزیگوت و هتروزیگوت تایید شوند. در شکل ۳ و ٤ و۵ نتایج سکانس سه نمونه (هتروزیگوت TC)، (هموزیگوت مغلوب CC) و (هموزیگوت غالب TT) که با بلاست مورد تایید قرار گرفته، آورده شده است.

٤- آنالیزهای آماری- برای بررسی در دو گروه بیمار و سالم و مقایسه تفاوت های فراوانی ژنوتیپی و آللی برای پلی‌مورفیسم مورد مطالعه از آزمون X2 با سطح معنی‌دار $P < 0.05$ استفاده شد. نتایجی که با تست‌های آماری به دست آمد، نشان داد که برای پلی مورفیسم rs3803662 از ژن TOX3 ژنوتیپ هموزیگوت مغلوب (CC) بین گروه بیمار و کنترل با $P=0.044$ محاسبه شد که می تواند نشانگر وجود ارتباط معنی‌داری بین حضور پلی‌مورفیسم مذکور در جمعیت بیمار و ارتباط آن با بروز سرطان سینه در زنان ایرانی باشد (جدول ٤ و نمودار۲).

www.SID.ir

Archive of SID



TCAACTGCATTGTTTCCCATTTCTTAAGAAACAGAATCTTTATTAGACTTAGTTCTTTTCTTGGTTATTTTTACA
ATTTTATTGTTCTATGGTTATTAAAAAATAACATGTCATATAAATTAAGCCTAGAAACATGGATGCTTATCAAA
GAAAGGATTGTCATCCAAAGCACCAACTATGAGAGATATCTATGTGCAATGGTATATAGATCTGTCATAGAAG
GGTTTAATTATATCTGCCTAATGATTTTCTCTCCTTAATGCCTCTATAGCTGTCCCTTAGCGAAGAATAAAACT
GTGGACTGACCCCCACCCATTTGCGAAGAAAGTACTGGGTCTTCAGCTTTCATTGTTCAGCCGGTGGTCTTTGT
GGACAACACCAGGGGCCCCTCCTGCTGAAGACTGTCTGGACTTCCTGATTTTCACTCCTGTATAAACCCCCTCC
CCCATTACTACCTTTGTCTCCTTGGGGATCCCTATAGTGAGGTCGTACAA

Homo sapiens TOX high mobility group box family member 3 (TOX3), RefSeqGene on chromosome 16
Sequence ID: NG_012623.1 Length: 116797 Number of Matches: 1

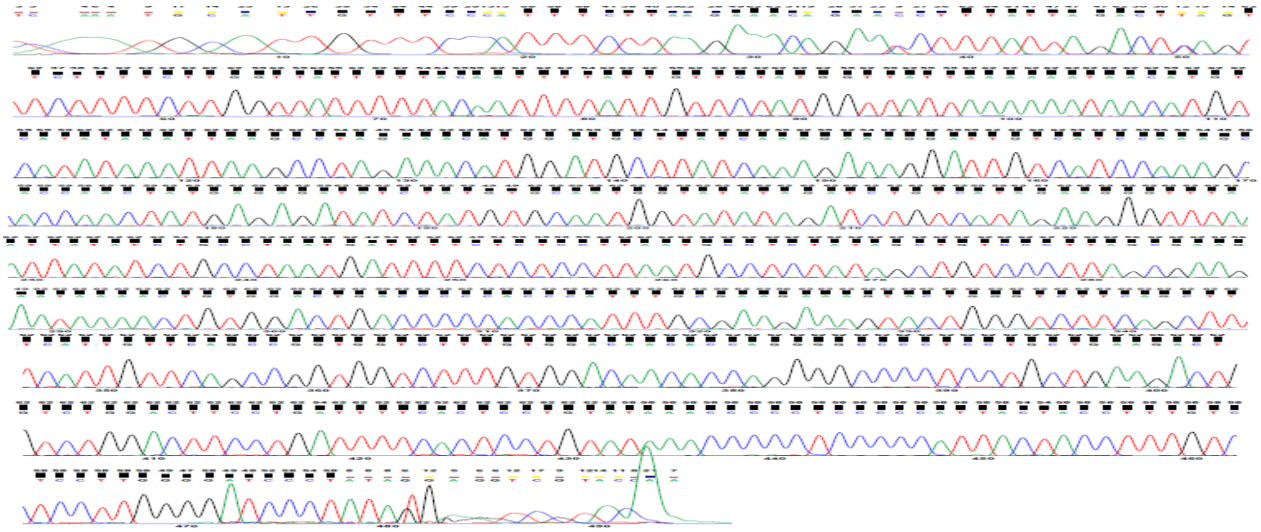
Score	Expect	Identities	Gaps	Strand
845 bits(457)	0.0	468/473(99%)	1/473(0%)	Plus/Plus

```
Query  1    TCAACTGC-ATTGTTTCCCATTTCTTAAGAAACAGAATCTTTATTAGACTTAGTTCTTTT  59
            |||| ||| ||||||||||||||||||||||||||||||  |||||||
Sbjct  97   TCAAATGCAATTGTTTCCCATTTCTTAAGAAACAGAATCTTTATTAGACTCAGTTCTTTT  156

Query  60   CTTGGTTATTTTTACAATTTTATTGTTCTATGGTTATTAAAAAATAACATGTCATATAAA  119
            |||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||
Sbjct  157  CTTGGTTATTTTTACAATTTTATTGTTCTATGGTTATTAAAAAATAACATGTCATATAAA  216

Query  120  TTAAGCCTAGAAACATGGATGCTTATCAAAGAAAGGATTGTCATCCAAAGCACCAACTAT  179
            |||||||||||||||  |||||||||||||||||||||||||||||
Sbjct  217  TTAAGCCTAGAAACATGGATGTTTATCAAAGAAAGGATTGTCATCCAAAGCACCAACTAT  276

Query  180  GAGAGATATCTATGTGCAATGGTATATAGATCTGTCATAGAAGGGTTTAATTATATCTGC  239
            |||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||
Sbjct  277  GAGAGATATCTATGTGCAATGGTATATAGATCTGTCATAGAAGGGTTTAATTATATCTGC  336

Query  240  CTAATGATTTTCTCTCCTTAATGCCTCTATAGCTGTCCCTTAGCGAAGAATAAAACTGTG  299
            |||||||||||||||||||||||  ||||||||||||||||||
Sbjct  337  CTAATGATTTTCTCTCCTTAATGCCTCTATAGCTGTCTCTTAGCGAAGAATAAAACTGTG  396

Query  300  GACTGACCCCCACCCATTTGCGAAGAAAGTACTGGGTCTTCAGCTTTCATTGTTCAGCCG  359
            |||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||
Sbjct  397  GACTGACCCCCACCCATTTGCGAAGAAAGTACTGGGTCTTCAGCTTTCATTGTTCAGCCG  456

Query  360  GTGGTCTTTGTGGACAACACCAGGGGCCCCTCCTGCTGAAGACTGTCTGGACTTCCTGAT  419
            |||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||
Sbjct  457  GTGGTCTTTGTGGACAACACCAGGGGCCCCTCCTGCTGAAGACTGTCTGGACTTCCTGAT  516

Query  420  TTTCACTCCTGTATAAACCCCCTCCCCCATTACTACCTTTGTCTCCTTGGGGA  472
            |||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||
Sbjct  517  TTTCACTCCTGTATAAACCCCCTCCCCCATTACTACCTTTGTCTCCTTGGGGA  569
```

شکل ۳- نتایج تعیین توالی نمونه فرد هتروزیگوت TC

www.SID.ir

Archive of SID



TCAAATGCATTGTTTCCCATTTCTTAAGAAACAGAACCTTTATTAGACTTAGTTCTTTTCTTGGTTATTTTTACA
ATTTTATTGTTCTATGGTTATTAAAAAATAACATGTCATATAAATTAAGCCTAGAAACATGGATGCTTATCAAA
GAAAGGATTGTCATCCAAAGCACCAACTATGAGAGATATCTATGTGCAATGGTATATAGATCTGTCATAGAAG
GGTTTAATTATATCTGCCTAATGATTTTCTCTCCTTAATGCCTCTATAGCTGTCCCTTAGCGAAGAATAAAACT
GTGGACTGACCCCCACCCATTTGCGAAGAAAGTACTGGGTCTTCAGCTTTCATTGTTCAGCCGGTGGTCTTTGT
GGACAACACCAGGGGCCCCTCCTGCTGAAGACTGTCTGGACTTCCTGATTTTCACTCCTGTATAAACCCCCTCC
CCCATTACTACCTTTGTCTCCTTGGGGATCCCTATAGGAGGTCGTACCAA

Homo sapiens TOX high mobility group box family member 3 (TOX3), RefSeqGene on chromosome 16
Sequence ID: NG_012623.1 Length: 116797 Number of Matches: 1

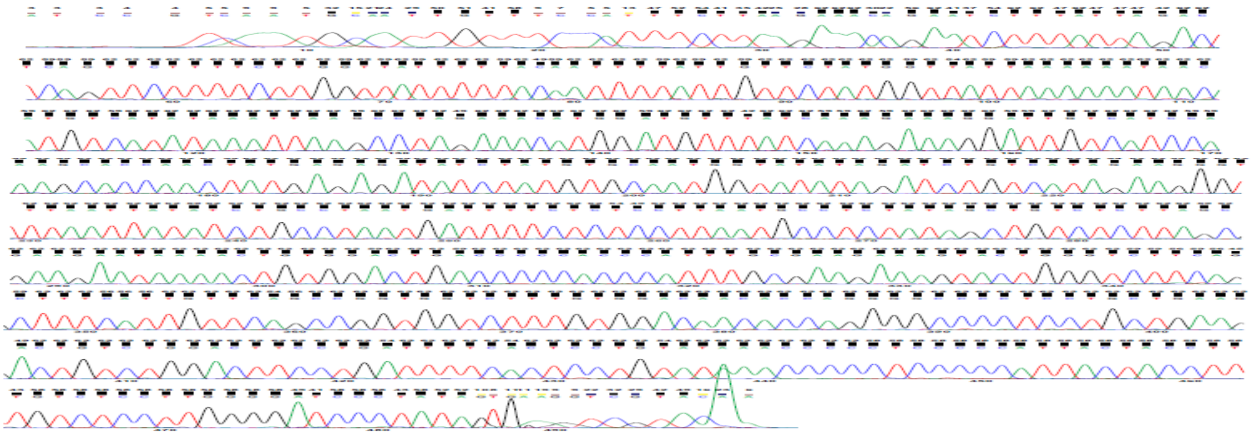
Score	Expect	Identities	Gaps	Strand
845 bits(457)	0.0	468/473(99%)	1/473(0%)	Plus/Plus

```
Query  1    TCAAATGC-ATTGTTTCCCATTTCTTAAGAAACAGAACCTTTATTAGACTTAGTTCTTTT  59
            |||||| |||||||||||||||||| |||||||| |||||||
Sbjct  97   TCAAATGCAATTGTTTCCCATTTCTTAAGAAACAGAATCTTTATTAGACTCAGTTCTTTT  156

Query  60   CTTGGTTATTTTTACAATTTTATTGTTCTATGGTTATTAAAAAATAACATGTCATATAAA  119
            ||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||
Sbjct  157  CTTGGTTATTTTTACAATTTTATTGTTCTATGGTTATTAAAAAATAACATGTCATATAAA  216

Query  120  TTAAGCCTAGAAACATGGATGCTTATCAAAGAAAGGATTGTCATCCAAAGCACCAACTAT  179
            |||||||||||||||| ||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||
Sbjct  217  TTAAGCCTAGAAACATGGATGTTTATCAAAGAAAGGATTGTCATCCAAAGCACCAACTAT  276

Query  180  GAGAGATATCTATGTGCAATGGTATATAGATCTGTCATAGAAGGGTTTAATTATATCTGC  239
            ||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||
Sbjct  277  GAGAGATATCTATGTGCAATGGTATATAGATCTGTCATAGAAGGGTTTAATTATATCTGC  336

Query  240  CTAATGATTTTCTCTCCTTAATGCCTCTATAGCTGTCCCTTAGCGAAGAATAAAACTGTG  299
            |||||||||||||||||||||||| ||||||||||||||||
Sbjct  337  CTAATGATTTTCTCTCCTTAATGCCTCTATAGCTGTCTCTTAGCGAAGAATAAAACTGTG  396

Query  300  GACTGACCCCCACCCATTTGCGAAGAAAGTACTGGGTCTTCAGCTTTCATTGTTCAGCCG  359
            ||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||
Sbjct  397  GACTGACCCCCACCCATTTGCGAAGAAAGTACTGGGTCTTCAGCTTTCATTGTTCAGCCG  456

Query  360  GTGGTCTTTGTGGACAACACCAGGGGCCCCTCCTGCTGAAGACTGTCTGGACTTCCTGAT  419
            ||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||
Sbjct  457  GTGGTCTTTGTGGACAACACCAGGGGCCCCTCCTGCTGAAGACTGTCTGGACTTCCTGAT  516

Query  420  TTTCACTCCTGTATAAACCCCCTCCCCCATTACTACCTTTGTCTCCTTGGGGA  472
            |||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||
Sbjct  517  TTTCACTCCTGTATAAACCCCCTCCCCCATTACTACCTTTGTCTCCTTGGGGA  569
```

شکل ٤- نتایج تعیین توالی نمونه فرد هموزیگوت مغلوب CC.

www.SID.ir

Archive of SID



ATCCGTCAATGCAATTGTTTCCATTTCTTAAGAAACAGAATCTTTATTAGACTCAGTTCTTTTCTTGGTTATTTT
TACAATTTTATTGTTCTATGGTTATTAAAAAATAACATGTCATATAAATTAAGCCTAGAAACATGGATGTTTAT
CAAAGAAAGGATTGTCATCCAAAGCACCAACTATGAGAGATATCTATGTGCAATGGTATATAGATCTGTCATA
GAAGGGTTTAATTATATCTGCCTAATGATTTTCTCTCCTTAATGCCTCTATAGCTGTCTCTTAGCGAAGAATAA
AACTGTGGACTGACCCCCACCCATTTGCGAAGAAAGTACTGGGTCTTCAGCTTTCATTGTTCAGCCGGTGGTCT
TTGTGGACAACACCAGGGGCCCCTCCTGCTGAAGACTGTCTGGACTTCCTGATTTTCACTCCTGTATAAACCCC
CTCCCCCATTACTACCTTTGTCTCCTTGGGGATCCCTATAGTGAAGGTCGTACAA

Homo sapiens TOX high mobility group box family member 3 (TOX3), RefSeqGene on chromosome 16
Sequence ID: NG_012623.1 Length: 116797 Number of Matches: 1

Score	Expect	Identities	Gaps	Strand
861 bits(466)	0.0	469/470(99%)	1/470(0%)	Plus/Plus

```
Query  8    AATGCAATTGTTT-CCATTTCTTAAGAAACAGAATCTTTATTAGACTCAGTTCTTTTCTT  66
            ||||||||| ||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||
Sbjct  100  AATGCAATTGTTTCCCATTTCTTAAGAAACAGAATCTTTATTAGACTCAGTTCTTTTCTT  159

Query  67   GGTTATTTTTACAATTTTATTGTTCTATGGTTATTAAAAAATAACATGTCATATAAATTA  126
            ||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||
Sbjct  160  GGTTATTTTTACAATTTTATTGTTCTATGGTTATTAAAAAATAACATGTCATATAAATTA  219

Query  127  AGCCTAGAAACATGGATGTTTATCAAAGAAAGGATTGTCATCCAAAGCACCAACTATGAG  186
            ||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||
Sbjct  220  AGCCTAGAAACATGGATGTTTATCAAAGAAAGGATTGTCATCCAAAGCACCAACTATGAG  279

Query  187  AGATATCTATGTGCAATGGTATATAGATCTGTCATAGAAGGGTTTAATTATATCTGCCTA  246
            ||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||
Sbjct  280  AGATATCTATGTGCAATGGTATATAGATCTGTCATAGAAGGGTTTAATTATATCTGCCTA  339

Query  247  ATGATTTTCTCTCCTTAATGCCTCTATAGCTGTCTCTTAGCGAAGAATAAAACTGTGGAC  306
            ||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||
Sbjct  340  ATGATTTTCTCTCCTTAATGCCTCTATAGCTGTCTCTTAGCGAAGAATAAAACTGTGGAC  399

Query  307  TGACCCCCACCCATTTGCGAAGAAAGTACTGGGTCTTCAGCTTTCATTGTTCAGCCGGTG  366
            ||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||
Sbjct  400  TGACCCCCACCCATTTGCGAAGAAAGTACTGGGTCTTCAGCTTTCATTGTTCAGCCGGTG  459

Query  367  GTCTTTGTGGACAACACCAGGGGCCCCTCCTGCTGAAGACTGTCTGGACTTCCTGATTTT  426
            ||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||
Sbjct  460  GTCTTTGTGGACAACACCAGGGGCCCCTCCTGCTGAAGACTGTCTGGACTTCCTGATTTT  519

Query  427  CACTCCTGTATAAACCCCCTCCCCCATTACTACCTTTGTCTCCTTGGGGA  476
            ||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||
Sbjct  520  CACTCCTGTATAAACCCCCTCCCCCATTACTACCTTTGTCTCCTTGGGGA  569
```

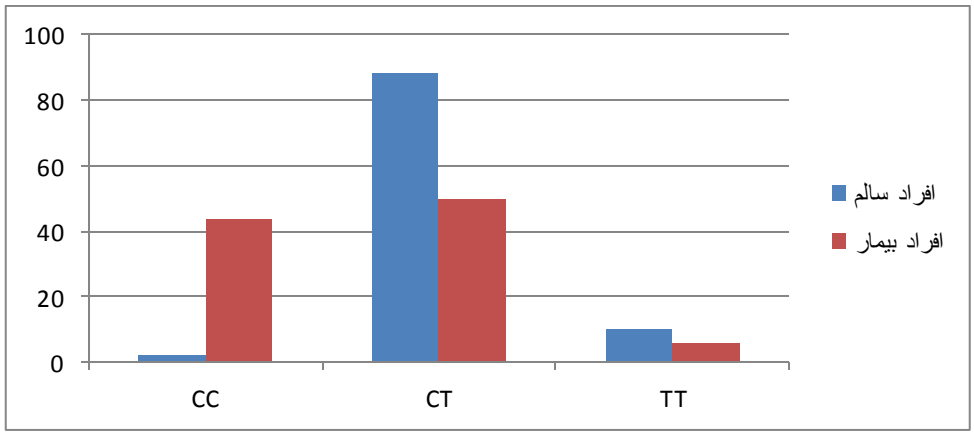
شکل ۵- نتایج تعیین توالی نمونه فرد هموزیگوت غالب TT.

www.SID.ir

Archive of SID

جدول ٤- وضعیت آماری آلل های پلی مورفیسم rs3803662 در افراد سالم و بیمار

ژنوتایپ	فراوانی گروه سالم	فراوانی گروه بیمار	آلل	فراوانی آلل ها در گروه سالم	فراوانی آلل ها در گروه بیمار	P.value
هموزیگوت غالب (TT)	۵ (٪۱۰)	۳ (٪٦)	T	٤۹(٪۹۸)	۲۸(٪٥٦)	۰,۰۸۲
هتروزیگوت (TC)	٤٤ (٪۸۸)	۲۵ (٪۵۰)	-	-	-	-
هموزیگوت مغلوب (CC)	۱ (٪۲)	۲۲ (٪٤٤)	C	٤۵(٪۹۰)	٤۷(٪۹٤)	۰,۰٤٤
فراوانی کل	۵۰ (٪۱۰۰)	۵۰ (٪۱۰۰)	-	-	-	-



نمودار ۲- مقایسه فراوانی افراد بیمار و سالم بر حسب درصد فراوانی

بحث

سرطان پستان شایع ترین سرطان زنان ایران است و طی سال‌های گذشته نیز رو به فزونی گذاشته است [۲۰]. ژن‌ها در شدت بیماری کاملاً تأثیرگذار هستند. بدین معنی که در بدن انسان ژن‌هایی وجود دارند که آنها، تومورزا نامیده می‌شوند. این ژن‌ها وقتی در بدن انسان فعال شوند سبب پیدایش تومورها می‌شوند، چون به روش‌های مختلف تکثیر سلولی را سبب می‌شوند. این آنکوژن‌ها در حدود ۳۰ تا ۳۵ درصد از سرطان‌های پستان فعال می‌شوند [٤ و ۲۵]. ژن هایی که در ایجاد سرطان پستان نقش دارند، تا حدودی شناخته شده‌اند ولی مطالعات درباره این ژن‌ها همچنان ادامه دارد و وجود آنها ممکن است ریسک ابتلا به سرطان پستان را افزایش دهد. موتاسیون‌های خاصی از این ژن‌ها در زنان بعضی نژادها نسبت به سایرین بیشتر دیده می‌شود [۵].

امروزه وجود پلی‌مورفیسم‌های ژنی در بافت‌های سرطانی سینه مورد بحث در جوامع علمی است. در خصوص حضور پلی‌مورفیسم‌هایی در ژن *TOX* 3 اعم از rs3803662، rs12443621 و rs8051542 مطالعات نشان داده است که می‌توانند با افزایش خطر ابتلا به سرطان پستان در ارتباط باشند (۱۷). حضور این پلی‌مورفیسم‌ها از جمله rs3803662 در ژن *TOX3* در بافت‌های سرطانی سینه مشخص شده و نقش ارتباط احتمالی آن در بروز و تکامل بدخیمی‌های سینه مورد تایید قرار گرفته است. بنابراین تشخیص و حضور این پلی‌مورفیسم می تواند به عنوان عاملی برای بروز سرطان سینه مطرح باشد و با بررسی مولکولی در این زمینه می‌توان از پیشرفت سرطان سینه و عواقب مهم آن جلوگیری کرده و به درمان سریع تر آن اقدام نمود[۸ و ۱۸]. با اهمیتی که این موضوع در سلامت زنان دارد،

www.SID.ir

Archive of SID

هدف از این مطاله بررسی بروز سرطان سینه و ارتباط آن با حضور پلی‌مورفیسم rs3803662 در ژن *TOX3* بوده است. به همین علت بررسی فراوانی این پلی مورفیسم در زنان بیمار ایرانی در این تحقیق مورد مطالعه قرار گرفت و نتایج نشان داد بین حضور ژنوتایپ مغلوب در گروه بیمار و وجود بیماری ارتباط معناداری وجود دارد (P=0.044). در نتیجه می‌توان از آن به عنوان مارکر ژنتیکی در غربال‌گری افراد بیمار استفاده نمود. تحقیقاتی در سال های اخیر بر روی ژن *TOX3* در جمعیت‌های مختلف انجام شده و مطالعاتی نیز در خصوص حضور پلی‌مورفیسم‌هایی در این ژن صورت گرفته است که در این تحقیق سعی شده است با مقایسه نتایج مطالعات گذشته، با مطالعه حاضرکه در جمعیتی از کشور ایران انجام شده، این ریسک فاکتور (پلی مورفیسم rs3803662 در ژن *TOX3*) در زنان ایرانی مبتلا به سرطان پستان با سایر جمعیت‌ها مقایسه شود.

در تحقیقی که توسط ادفری و همکاران در سال ۲۰۱۰ برای بررسی ارتباط تغییرات ژنتیکی با سرطان سینه و میزان پیش آگهی این بیماری انجام شد، مشخص شده است که پلی مورفیسم‌های معمول در ژن *TOX3* ریسک فاکتور سرطان سینه هستند و حضور این پلی مورفیسم‌ها در خانم‌ها می‌تواند در نتایج ماموگرافی به تشخیص و پیش آگهی ابتلا به سرطان سینه موثر می‌باشد [۱٦]. ادلر و همکاران در سال ۲۰۱۰ در مطالعه ایی با تعیین توالی کل ژنوم از لوکوس 16q12.1 و ارتباط پلی‌مورفیسم‌های آن ناحیه با سرطان سینه نشان دادند در جمعیتی از زنان اروپایی و جنوب اسیا، ۱۱ واریانت از ژن *TOX3* می‌تواند با سرطان سینه ارتباط داشته باشد که در میان انها پلی‌مورفیسم rs3803662 بیشترین ارتباط معنی‌دار را با سرطان سینه نشان داد [۲۱]. در تحقیق حاضر نیز نتایج مشابه مطالعه ادلر ارتباط معنی دار بین حضور پلی‌مورفیسم rs3803662 از ژن *TOX3* و بروز سرطان سینه در جمعیتی از زنان ایرانی مشاهده شد. در مطالعه‌ایی دیگر در سال ۲۰۱۰ توسط لانگ و همکاران بر روی فاکتورهای ژنتیکی مرتبط با سرطان سینه که در ٦۱۷۳ فرد بیمار و ٦۳٤۰ نمونه کنترل از زنان اسیایی انجام شد، ٤ پلی‌مورفیسم جدید علاوه بر پلی‌مورفیسم‌های قبلی در لوکوس 16q12.1 (مرتبط با ژن *TOX3*) شناسایی شد که ارتباط معناداری با ریسک ابتلا به سرطان سینه در جمعیت زنان اسیایی داشتند [۱۲]. شان و همکاران در سال ۲۰۱۲ در تونس تحقیقی را در جمعیت عرب با تعیین توالی کل ژنوم در لوکوس مرتبط با سرطان سینه انجام دادند. نتایج انها حضور ۹ پلی‌مورفیسم از جمله rs3803662 را که با سرطان سینه ارتباط داشتند مشخص نمود [۱۹]. همچنین بایراکتار و همکاران در سال ۲۰۱۳ چندین پلی‌مورفیسم مرتبط با سرطان سینه را با روش تعیین توالی کل ژنوم بررسی نمودند. نتایج مطالعه آن‌ها نشان داد لوکوس‌های 16q12 و 17q23 لوکوس‌های حساس به سرطان سینه هستند و در پیش اگهی و امکان بقای بیماران می توانند نقش داشته باشند [۳]. در تحقیقی که توسط هی و همکارانش در سال ۲۰۱٤ در جنوب چین انجام شد، ارتباط ۵ پلی‌مورفیسم از ژن *TOX3* با سرطان سینه بررسی شد و مشخص گردید که ۲ پلی‌مورفیسم rs4784227 و rs8051542 ارتباط معنی‌داری با سرطان سینه دارند ولی ارتباط ۳ پلی‌مورفیسم rs12443621 و rs3112612 و rs3803662 و سرطان سینه در جمعیت زنان جنوب چین معنی‌دار نبود. آن‌ها چنین نتیجه گرفتند که اختلاف نتایج آن‌ها با سایر مطالعات می‌تواند به‌علت اختلاف نژاد در جمعیت‌های مختلف و وجود فاکتورهای هتروژنتیکی متفاوت در ایجاد سرطان سینه باشد [۷]. همچنان که در تحقیق حاضر که جمعیتی از زنان ایرانی

www.SID.ir

Archive of SID

مورد مطالعه قرار گرفتند مشابه سایر تحقیقات انجام شده در بین جمعیت زنان اروپایی و اسیایی، ارتباط معنی‌دار بین حضور پلی‌مورفیسم rs3803662 از ژن *TOX3* و سرطان سینه مشاهده شد که می تواند نشانگر تفاوت نژادی با جمعیت چین و تشابه بیشتر زنان ایرانی با جمعیت اروپایی باشد. زانگ و همکاران در سال ۲۰۱۵ روی ۷۲۷۵ فرد بیمار و ۱۲۸٦۸٦ نمونه کنترل مطالعه‌ایی را انجام دادند و به بررسی ارتباط ۳ پلی مورفیسم از ژن *TOX3* با سرطان سینه در جمعیت های مختلف پرداختند. نتایج انها نشان داد بین حضور ۳ پلی‌مورفیسم rs3803662 و rs8051542 و rs1244621 و سرطان سینه درجمعیتی از زنان اروپایی ارتباط معنی‌دار وجود دارد، در حالی که در جمعیت زنان اسیایی فقط بین حضور ۲ پلی‌مورفیسم rs3803662 و rs8051542 و سرطان سینه ارتباط معنی دار بود و در جمعیت زنان افریقایی هیچ یک از ۳ پلی‌مورفیسم با سرطان سینه ارتباط معنی‌دار نشان ندادند. در آن تحقیق با متاانالیز نتایج مشخص شد این ۳ پلی‌مورفیسم دارای ریسک متفاوتی در ارتباط با سرطان سینه در جمعیت‌های مختلف هستند و نتایج در اقوام متفاوت می‌تواند متفاوت از هم باشد [۲٦]. تحقیق زانگ و همکاران می‌تواند توجیه کننده تفاوت نتایج بین حضور پلی‌مورفیسم rs3803662 از ژن *TOX3* و ارتباط ان با سرطان سینه در جمعیت زنان ایرانی با سایر جمعیت‌ها باشد. همچنین وانگ و همکاران در سال ۲۰۱٦ در تحقیقی مشابه روی ٤٤۸۲۰ فرد بیمار و ۵۸۳۱٦ نمونه کنترل، مشخص نمودند پلی‌مورفیسم rs3803662 از ژن *TOX3* به عنوان یک مارکر، سبب افزایش ریسک ابتلا به سرطان سینه در جمعیتی از زنان اسیایی می‌گردد [۲۲].

در این تحقیق که حضور پلی‌مورفیسم rs3803662 از ژن *TOX3* با روش Tetra Armes PCR انجام شد، نتایجی مشابه نتایج تحقیقاتی که در گذشته در این زمینه انجام گرفته بود، به دست آمد. به این ترتیب که در جمعیتی از زنان ایرانی مورد مطالعه بین حضور پلی‌مورفیسم rs3803662 از ژن *TOX3* و سرطان سینه ارتباط معنی دار مشاهده شد که در تایید نتایج به دست آمده در جمعیت زنان اسیایی می‌باشد.

تشکر و قدردانی

از کلیه مسئولین محترم در دانشکده علوم زیستی دانشگاه آزاد اسلامی واحد تهران شمال و مسئولان محترم آزمایشگاه پاسارگارد به خصوص آقای دکتر امینی که در انجام کارهای آزمایشگاهی این پایان نامه کمال همکاری را مبذول فرموده‌اند، تشکر و قدردانی می‌نماید.

منابع

[1] Abbasi B., Ansari N., Fardad F., Nasiripour S., Ramim T. 2016. Breast cancer epigenetics: review article. Tehran University Medical Journal, 74(8): 535-544.

[2] Aliahmad P., Kaye J. 2008. Development of all CD4 T lineages requires nuclear factor TOX. Journal of Exprimental Medicin, 205 (1): 245-266.

[3] Bayraktar S., Thompson P.A., Yoo S., Do K., Sahin A., Arun B. 2013. The Relationship Between Eight GWAS-Identified Single-Nucleotide Polymorphisms and Primary Breast Cancer Outcomes. The Oncologist, 18: 493–500.

[4] Cybulski C., Carrot-Zhang J., Kluźniak W., Rivera B., Kashyap A., Wokołorczyk D. 2015. Germline RECQL mutations are associated with breast cancer susceptibility. Nat Genet, 47(6): 643-6.

[5] Dapic V., Carvalho M.A., Monteiro A.N.A. 2005. Breast Cancer Susceptibility and the DNA Damage Response. Cancer Control, 12(2): 127-136.

[6] Han Y.J., Zhang J., Zheng Y., Huo D., Olopade O.I. 2016. Genetic and Epigenetic Regulation of *TOX3* Expression in Breast Cancer. PLoS One, 11(11): 1-14.

[7] He X., Yao G., Li F., Li M., Yang X. 2014. Risk-Association of Five SNPs in *TOX3/*

www.SID.ir

Archive of SID

LOC643714 with Breast Cancer in Southern China. International Journal of Molecular Sciences, 15: 2130-2141.

[8] Jiang C., Yu S., Qian P., Guo R., Zhang R., Zhi A.O. 2016. The breast cancer susceptibility-related polymorphisms at *the TOX3/ LOC643714* locus associated with lung cancer risk in a Han Chinese population. Oncotarget, 7(37): 59742-59753.

[9] Jones J.O., Chin S., Wong-Taylor L., Leaford D., Ponder B., Caldas C., Maia A. 2013. TOX3Mutations in Breast Cancer. PLOS ONE, 8(9): 1-5.

[10] Keyhanian S.H., Jannat-Alipoor Z., Lohrasbi E., Fotoukian Z., Saravi M.M. 2015. Evaluation of Biologic Markers Frequency and Their Correlation with Some Determinant Prognostic Factors in Women with Breast Cancer Referred to Oncology Clinic of Imam Sajjad Hospital of Ramsar during 2002-2012. Scientific Journal of Ilam University of Medical Sciences, 22(7): 115-128.

[11] Li J, Humphreys K., Heikkinen T., Aittomäki K., Blomqvist C., Pharoah P.D. 2011. Combined analysis of genome-wide association studies in breast cancer. Breast Cancer Res Treat. 126(3): 717-27.

[12] Long J., Cai Q., Shu X., Qu Sh., Li C., Zheng Y. 2010. Identification of a Functional Genetic Variant at 16q12.1 for Breast Cancer Risk: Results from the Asia Breast Cancer Consortium. PLoS Genetics, 6(6): 1-9.

[13] Low S., Takahashi A., Ashikawa K., Inazawa J., Miki Y., Kubo M. T. 2013. Genome-Wide Association Study of Breast Cancer in the Japanese Population. PLOS ONE, 8(10): 1-8.

[14] Mokarian F., Abdeyazdan N., Motamedi N., Tabesh P., Mokarian, Sh., Hashemi F. 2012. Risk Factors of Metastasis in Women with Breast Cancer. Journal of Isfahan Medical School, 29(171.3): 2785-2796.

[15] Moshki M., Taymoori P., Khodamoradi S., Roshani D. 2016. Relationship Between Perceived Risk and Physician Recommendation and Repeat Mammography in the Female Population in Tehran, Iran. Asian Pacific Journal of Cancer Prevention, 17: 161-166.

[16] Odefrey F., Stone J., Lyle C., Gurrin L.C., Byrnes G.B., Apicella C. 2010. Common Genetic Variants Associated with Breast Cancer and Mammographic Density Measures That Predict Disease. Molecular and Cellular Pathobiology, 9: 1449-1458.

[17] Onsory Kh., Ranapoor S. 2011. Breast Cancer and the Effect of Environmental Factors Involved. New Cell Mol Biotech, 1(4): 59-70.

[18] Ruiz-Narváez E.A., Rosenberg L., Cozier Y.C., Cupples L.A., Adams-Campbell L.L., Palmer J.R. 2010. Polymorphisms in *the TOX3/LOC643714* locus and risk of breast cancer in African-American women. Cancer Epidemiol Biomarkers Prev, 19(5): 1320-1327.

[19] Shan J., Mahfoudh W., Dsouza S.P., Hassen E., Bouaouina N., Abdelhak S. 2012. Genome-Wide Association Studies (GWAS) breast cancer susceptibility loci in Arabs: susceptibility and prognostic implications in Tunisians. Breast Cancer Res Treat, 135: 715–724.

[20] Tavakol por V., Tavakol por S. 2014. Study of breast cancer genes, The first national congress of biology and nature science in Iran (2014), 33-39.

[21] Udler M.S., Ahmed Sh., Healey C.S., Meyer K., Struewing J., Maranian M. 2010. Fine scale mapping of the breast cancer 16q12 locus. Human Molecular Genetics, 19 (12): 2507–2515.

[22] Wang Q., Wang N.Y., Cao X.M., Sun X., Shen D., Yuan M., Chen J.F. 2016. Increased risk of breast cancer in individuals carrying the TNRC9 rs3803662 C>T polymorphism: a meta-analysis of case-control studies. Genet Mol Res, 15(3): 1101-1022.

[23] Yang Y., Wang W., Liu G., Yu Y., Liao M. 2016. Association of single nucleotide polymorphism rs3803662 with the risk of breast cancer. SCIENTIFIC REPORTS, 6(29008): 1-6.

[24] Yasaei V., Dalton A., Hornby D.P. 2004. New genetic mutations in major breast cancer genes (BRCA1/BRCA2) in Iranian woman with breast cancer. Research in medical, 28(2): 101-108.

[25] Yu X, Li Z. 2015. TOX gene: a novel target for human cancer gene therapy. American journal of Cancer research, 5(12): 3516–3524.

[26] Zhang L., Long X. 2015. Association of three SNPs in *TOX3* and breast cancer risk: Evidence from 97275 cases and 128686 controls. Scientific Reports, 5(12773): 1-12.

www.SID.ir

Archive of SID

Titel: Study of relation on breast cancer and rs3803662 polymorphism of *TOX3* gene in Iranian female population by Tetra Arms PCR

Siasi E.*, Ghane B., Ashrafi F.

Department of Genetics, Faculity of science, North Tehran Branch, Islamic Azad University, Tehran, Iran.

* Email: emi_biotech2006@yahoo.com

Received: 22 November 2018 Accepted: 10 June 2019

Abstract

TOX3 gene plays an important role in the risk of breast cancer in females. Polymorphisms were identified in this gene, that can associated with breast cancer. The aim of this study was relation between breast cancer and rs3803662 polymorphism of *TOX3* gene in Iranian females by Tetra Arms PCR. Blood samples were collected from 50 normal groups and 50 Breast cancer Patients. Then was extracted DNA from samples. Genotype frequency of this polymorphism in *TOX3* gene were determined by using Tetra Arms PCR. Genotyp frequency for TT, TC and CC in normal groups was 10%, 88% and 2%, and For patient groups was 6% , 50% and 44%, respectively. Frequency of CC recessive homozygous genotype of rs3803662 polymorphism in *TOX3* gene between normal groups and breast cancer patients was statistical significant difference ($P < 0.05$). This research for first time was studied relation between the risk of breast cancer and presence of rs3803662 polymorphism in *TOX3* gene in Iranian females. The results of this study was showed that presence of rs3803662 polymorphism in *TOX3* gene, as genetic marker, can associated with breast cancer in Iranian female.

Keywords: Breast Cancer, rs3803662 Polymorphism, *TOX3* Gene, Tetra Arms PCR.

www.SID.ir