ارتباط پلی مورفیسم T>C (rs1635498) ژن اگزونوکلئاز ۱ و ریسک ابتلا به سرطان روده بزرگ غیر ارثی در یک جمعیت از ایران

زهرا اکبری[۱،۲]، سیدرضا محبی[۳]*، محمدیعقوب طالقانی[۴]، مهدی منتظر حقیقی[۵]، محسن واحدی[۶]،
هانیه میرطالبی[۷]، پدرام عظیم‌زاده[۸]، سارا رومانی[۹]، محمدرضا زالی[۱۰]

تاریخ دریافت 1392/03/01 تاریخ پذیرش 1392/06/20

چکیده

پیش زمینه و هدف: یکی از سیستم‌های مهم تعمیر DNA ، سیستم ترمیم جفت بازهای ناجور (MMR) است. موتاسیون در این سیستم می‌تواند منجر به انواع مختلف سرطان شود. اگزونوکلئاز ۱ (Exo1) تنها اگزونوکلئاز درگیر در سیستم MMR انسانی است. به دلیل نقش خاص Exo1 در سیستم MMR ،این ژن یک فاکتور مستعد کننده در سرطان کلورکتال محسوب می‌شود. چند شکلی‌های تک نوکلئوتیدی (SNP) در افزایش یا کاهش میزان ابتلا به سرطان کلورکتال دخیل هستند. در این مطالعه، به‌منظور دستیابی به بیومارکرهای مستعد کننده سرطان کلورکتال، به بررسی همبستگی پلی‌مورفیسم تک نوکلئوتیدی rs1635498 (C723R) ژن Exo1 و احتمال خطر ابتلا به سرطان روده بزرگ در بیماران مراجعه کننده به بیمارستان طالقانی تهران می‌پردازیم.

مواد و روش کار: این مطالعه مورد-شاهدی بر روی ۱۱۱ بیمار مبتلا به سرطان کلورکتال و ۱۲۱ فرد سالم که به بیمارستان طالقانی شهر تهران مراجعه کرده بودند انجام گرفت. جهت تعیین ژنوتیپ‌های پلی‌مورفیسم تک نوکلئوتیدی rs1635498 ژن Exo1 از روش PCR-RFLP و آنزیم محدودالاثر HpyCHIV مورد استفاده قرار گرفت.

یافته‌ها: بر اساس یافته‌ها در حالتی که ژنوتیپ TT به‌عنوان مرجع انتخاب شد، درصد فراوانی ژنوتیپ‌های CC,CT,TT در بیماران مبتلا به سرطان کلورکتال ۹۰/۱، ۹/۰ ، ۰/۹ درصد و در گروه کنترل ۹۲/۶، ۷/۴، ۰/۰ درصد بوده و اختلاف معنی‌دار نشان ندادند. درصد فراوانی آلل T در نمونه‌های بیمار، ۹۴/۶ درصد و در گروه کنترل ۹۶/۳ درصد بود. همچنین درصد فراوانی الل C در نمونه‌های بیمار و کنترل به‌ترتیب، ۵/۴درصد و ۳/۷ درصد محاسبه شد.

بحث و نتیجه گیری: نتایج نشان داد که پلی‌مورفیسم rs1635498 ژن Exo1 با مستعد کردن افراد در ابتلا به سرطان کلورکتال همبستگی نداشته و بنابراین می‌توان نتیجه‌گیری کرد که این پلی‌مورفیسم در افزایش یا کاهش خطر ابتلا به سرطان کلورکتال نقش معناداری ندارد.

کلید واژه‌ها: پلی‌مورفیسم تک‌نوکلئوتیدی، سرطان کلورکتال، ژن اگزونوکلئاز ۱ (Exo1)

مجله پزشکی ارومیه، دوره بیست و چهارم، شماره هشتم، ص ۶۲۳-۶۱۷، آبان ۱۳۹۲

آدرس مکاتبه: تهران، بزرگراه شهید چمران، ولنجک، خیابان یمن، خیابان پروانه، بیمارستان طالقانی، طبقه ششم، بخش گوارش و کبد، مرکز تحقیقات گوارش و کبد دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی، تلفن: ۰۲۱-۲۲۴۳۲۵۱۴

Email: srmohebbi@gmail.com

[۱] کارشناس ارشد زیست شناسی سلولی و مولکولی دانشگاه غیر انتفاعی خاتم، تهران

[۲] کارشناس ارشد زیست شناسی سلولی و مولکولی، مرکز تحقیقات بیماری‌های گوارش و کبد دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی، تهران ، ایران

[۳] استادیار ویروس شناسی، مرکز تحقیقات بیماری‌های گوارش و کبد دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی، تهران ، ایران (نویسنده مسئول)

[۴] دانشجوی کارشناسی ارشد، زیست شناسی سلولی و مولکولی، مرکز تحقیقات بیماری‌های گوارش و کبد دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی، تهران ، ایران

[۵] دکتری ژنتیک مولکولی، استادیار، عضو هیئت علمی گروه زیست شناسی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد تهران شرق

[۶] دانشجوی دکتری آمار، مرکز تحقیقات علوم پایه و اپیدمیولوژی بیماری‌های دستگاه گوارش دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی، تهران، ایران

[۷] دانشجوی کارشناس ارشد سلولی – تکوین، مرکز تحقیقات گوارش و کبد دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی، تهران

[۸] کارشناس ارشد زیست شناسی سلولی و مولکولی، مرکز تحقیقات بیماری‌های گوارش و کبد دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی، تهران ، ایران

[۹] کارشناس ارشد میکروبیولوژی، مرکز تحقیقات بیماری‌های گوارش و کبد دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی، تهران ، ایران

[۱۰] استاد گروه گوارش مرکز تحقیقات بیماری‌های گوارش و کبد دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی، تهران ، ایران

مقدمه

سرطان روده بزرگ چهارمین سرطان شایع و دومین سرطان کشنده پس از سرطان ریه است. بروز این سرطان در سه دهه گذشته در ایران افزایش قابل توجهی داشته است(۱،۲). بیشتر سرطان‌های روده بزرگ از طریق فرآیندهایی ایجاد می‌شود که دو مسیر مولکولی اصلی را شامل می‌شود، یکی مسیر مهارکنندگی، که به‌وسیله جهش‌های متوالی در انکوژن‌ها و ژن‌های مهارکننده سرطان شناسایی می‌شود و دوم مسیر جهش‌زایی، که به‌وسیله نقص در ژن‌های ترمیم‌کننده بازهای جفت‌شده اشتباه DNA (Mismatch repair) شناسایی می‌شود(۳،۴).

آسیب‌های DNA در اثر عوامل درونی یا بیرونی، خطاهای همانندسازی و ... به‌طور روزانه در هر سلول اتفاق می‌افتد. انباشت صدمات ترمیم‌نشده در ژن‌های اصلی می‌تواند از عملکرد طبیعی سلول‌ها جلوگیری کرده و احتمال شکل‌گیری تومور را افزایش دهد(۵). تصور می‌شود که آسیب‌های DNA و ناپایداری ژنومی اولین مرحله در سرطان‌های مختلف باشد(۶). سیستم تعمیر DNA مسئول رفع آسیب‌های DNA و حفظ پایداری ژنومیک و از عوامل اصلی جلوگیری از تومورزایی است (۷).

یکی از مسیرهای اصلی ترمیم DNA در سلول‌های انسانی، سیستم ترمیم‌کننده بازهای جفت‌شده اشتباه (MMR) است. وظیفه اصلی ژن‌های سیستم MMR شناسایی و تصحیح جفت بازهای ناجور است که در پی فرایند همانندسازی و نوترکیبی DNA روی می‌دهد (۸). همچنین این سیستم به حفظ پایداری ژنومیک، نوترکیبی DNA و میانجیگری جهت توقف سیکل سلولی کمک می‌کند (۶،۹).این سیستم در جلوگیری از سرطان‌زایی مهم است و گزارش‌ها حاکی از آن است که موتاسیون‌های سیستم ترمیم‌کننده بازهای جفت‌شده اشتباه، منجر به انواع مختلف سرطان خواهد شد (۱۰،۱۱).

اگزونوکلئاز۱ (Exo1) تنها اگزونوکلئاز درگیر در سیستم MMR انسانی است. ژن Exo1 بر روی کروموزوم ۱q۴۲-q۴۳ قرار داشته و طول آن ۴۲kb می‌باشد. این ژن دارای یک اگزون ترجمه نشدنی است که به دنبال ۱۳ اگزون قابل ترجمه می‌آید (۱۲). پروتئین Exo1 دارای ۸۴۶ اسید آمینه بوده و متعلق به خانواده RAD2 است و نقش اساسی در عملکرد نوکلئازی '۳ به'۵ و '۵ به'۳ ایفا می‌کند (۲). پروتئین Exo1 با سایر پروتئین‌های MMR تشکیل کمپلکس سه‌تایی داده و تولید Exo1-MLH1-PMS2 (Exo1-MutSα) و یا کمپلکس Exo1-MSH2-MSH6 (Exo1-MutLα) می‌کند که در کمپلکس اول اتصال Exo1 به MLH1 و در کمپلکس دوم اتصال به MSH2 صورت می‌گیرد (۱۲،۱۳). تصحیح جفت‌شدگی‌های ناجور در سیستم MMR بستگی به فعالیت هیدرولیتیکی Exo1 دارد (۱۴). به‌طوری‌که موش‌های فاقد Exo1 دارای بقاء کمتر و افزایش استعداد در پیشرفت لنفوما خواهند بود (۹،۱۲). Bardwell و همکاران نشان دادند که موش‌های فاقد اگزون شش از ژن Exo1، دارای نقص در سیستم MMR خواهند بود (۱۲،۱۵).

به‌دلیل نقش خاص Exo1 در سیستم MMR، این ژن یک ژن هدف بارز و یک فاکتور بالقوه در سرطان کلورکتال محسوب می‌شود (۲،۶). با توجه به ارتباط عملکرد پروتئین Exo1 با سرطان روده بزرگ غیر ارثی، به منظور دستیابی به بیومارکرهای مستعدکننده در CRC، پلی مورفیسم rs1635498 ژن Exo1 مورد مطالعه قرار گرفت.

به‌طور کلی در بسیاری از انواع سرطان‌ها، بیومارکرهای مناسب می‌توانند به‌عنوان راهکارهای غیر تهاجمی و اقتصادی، جهت تشخیص خطر و شناخت مراحل اولیه درمان سرطان مفید باشند. بنابراین جستجوی بیومارکرهای بیشتر، می‌تواند در تشخیص و درمان سرطان سودمند و پر فایده باشد.

بر طبق داده‌های پایگاه اطلاعاتی NCBI ،پلی‌مورفیسم rs1635498 ژن Exo1، در اگزون ۱۴ این ژن است که تغییر نوکلئوتید سیتوزین به تیمین در این ناحیه سبب جایگزینی اسید آمینه سیستئین با یک گروه سولفیدریل به اسید آمینه آبدوست آرژنین با بار مثبت در جایگاه اسید آمینه ۷۲۳ پروتئین Exo1 می‌شود. با توجه به معرفی این پلی‌مورفیسم به‌عنوان فاکتور ریسک ابتلا به سایر سرطان‌ها ، هدف در نظر گرفته شده برای مطالعه حاضر، بررسی ارتباط پلی‌مورفیسم rs1635498 با افزایش یا کاهش خطر ابتلا به سرطان روده بزرگ غیرارثی در بیماران ایرانی مراجعه کننده به بخش گوارش بیمارستان آیت الله طالقانی تهران است.

مواد و روش‌ها

در این طرح ۱۱۱ بیمار مبتلا به سرطان کلورکتال که جهت درمان یا تشخیص طی سال‌های ۱۳۸۷ تا ۱۳۸۸ به بیمارستان طالقانی تهران مراجعه کرده بودند، جمع آوری شد. همچنین ۱۲۱ فرد سالم شاهد که با گروه بیمار مورد مطالعه هم‌خوانی داشتند ، نیز انتخاب شدند . بیماران از افرادی بودند که از نظر پاتولوژی و علایم بالینی نشان دهنده سرطان روده بزرگ غیر ارثی بودند و کسانی که دارای نتایج پاتولوژی منفی برای سرطان روده بزرگ بودند، به عنوان کنترل انتخاب شدند. از کلیه بیماران و کنترل‌ها رضایت نامه کتبی اخذ و در مورد نحوه استفاده از نتایج و داوطلبانه بودن حق شرکت افراد در مطالعه توسط کمیته اخلاق مرکز

تحقیقات گوارش و کبد دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی تصویب و مورد استفاده قرار گرفت. از تمامی بیماران و کنترل‌ها، نمونه خون محیطی به میزان پنج سی‌سی جهت انجام آزمایشات ژنتیکی PCR-RFLP گرفته شد.

روش PCR (Polymerase chain Reaction) مطابق با پروتکل استاندارد، سبب تکثیر منطقه مورد نظر با استفاده از پرایمرها و برنامه اختصاصی، توسط دستگاه ترموسایکلر می‌شود (۱۶). بدین منظور DNA ژنومی با استفاده از روش استاندارد فنل-کلروفرم از خون محیطی استخراج شده (۱۶) و توالی پلی مورفیسم rs1635498 با استفاده از پرایمرهای اختصاصی زیر که توسط نرم افزار Gene Runner version 3.05 طراحی شده بودند،

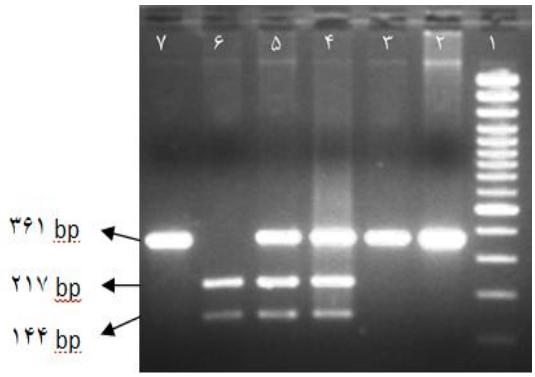
Forward: 5'-AAATTGGCAAATATCATCCTTTCC -3'

Reverse: 5'-CAGGTATTTTGATTTTTAATTCTGC-3'

تکثیر گردید. شرایط و برنامه PCR به این ترتیب بود که ابتدا ۵ دقیقه واسرشت اولیه در دمای ۹۵ درجه سانتی‌گراد انجام گرفت و سپس ۳۰ سیکل به این صورت انجام شد که در ابتدا ۴۵ ثانیه ، واسرشت ، ۴۰ ثانیه دمای ۵۹ درجه سانتی‌گراد به‌منظور اتصال پرایمرها ،۴۵ ثانیه به منظور تکثیر و نهایتاً ۱۰ دقیقه تکثیر نهایی در دمای ۷۲ درجه سانتی‌گراد انجام شد. جهت تایید محصول PCR به دست آمده از ژل آگارز ۱درصد و الکتروفورز استفاده شد. در مرحله بعد به منظور تعیین ژنوتیپ پلی‌مورفیسم مورد نظر از روش RFLP (Restriction Frequent Length Polymorphism) استفاده می‌شود. در این روش در آغاز آنزیم مناسب با استفاده از سایت شرکت NEW ENGLAND Biolabs (tools.neb.com/NEBcutter2/) برای جایگاه پلی‌مورفیسم موردنظر انتخاب شد.

محصولات PCR در مجاورت آنزیم محدودالاثر HpyCH4IV(Cat# R0619L)انتخاب شده، در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد به مدت ۵ ساعت مورد هضم قرار گرفتند. با توجه به اینکه برای این آنزیم یک جایگاه برش در قسمت تکثیر شده وجود دارد، بنابراین در افراد با ژنوتیپ هموزیگوت برای جایگاه مورد نظر، حاصل از RFLP دو قطعه به طول‌های ۲۱۷bp و ۱۴۴bp خواهد بود. در افراد هموزیگوت برش داده نشده برای جایگاه SNP فوق، یک قطعه ۳۶۱bp مشاهده می‌شود و در افراد هتروزیگوت سه قطعه به طول‌های ۳۶۱bp و ۲۱۷ bp و ۱۴۴bp حاصل می‌شود. آنالیز تمام محصولات بر روی ژل آگارز ۲ درصد انجام شد و رنگ آمیزی ژل‌ها با استفاده از اتیدیوم برماید صورت گرفت (تصویر۱).

تجزیه و تحلیل اطلاعات با استفاده از آزمون مجذور کای و متغیرهای کمی، با آزمون T-Test صورت پذیرفت. همچنین نسبت شانس OR و حدود اطمینان ۹۵درصد، توسط رگرسیون لجستیک محاسبه گردید. مقدار P-Value کمتر از ۰/۰۵ به‌عنوان سطح معنی‌داری درنظر گرفته شد. کلیه آنالیزها با استفاده از نرم افزار SPSS ویرایش ۱۳ صورت گرفت.



تصویر شماره (۱): قطعات حاصل از هضم با آنزیم HpyCH4IV

۱-سایز مارکر ۱۰۰ جفت باز (DNA Ladder)،۷و۳و۲ ژنوتیپ TT، ۵و۴- ژنوتیپ CT، ۶- ژنوتیپ CC

یافته‌ها

۲۳۲ نفر شامل ۱۱۱ فرد (۴۸درصد) مبتلا به سرطان کلورکتال (گروه بیمار) و۱۲۱ فرد (۵۱درصد) سالم مورد بررسی قرار گرفتند. پس از بررسی مشخص شد که در این طرح ۱۱۱ فرد بیمار مبتلا به سرطان کلورکتال که جهت درمان یا تشخیص طی سال‌های ۱۳۸۷ تا ۱۳۸۸ به بیمارستان طالقانی تهران مراجعه کرده بودند، جمع‌آوری شد. همچنین ۱۲۱ فرد سالم شاهد که از نظر جنسیت با گروه مورد مطالعه هم‌خوانی داشتند، نیز انتخاب شدند. بیماران از افرادی تشکیل شده بودند که از نظر پاتولوژی و علایم بالینی نشان‌دهنده سرطان روده بزرگ بودند و کسانی که دارای نتایج پاتولوژی منفی برای سرطان روده بزرگ بودند، به‌عنوان کنترل انتخاب شدند. پس از بررسی مشخص شد که گروه بیماران شامل، ۶۲ نفر (۵۵/۸درصد) مرد و ۴۹ نفر (۴۴/۲درصد) زن با میانگین (±انحراف معیار) سنی ۶۱±۱۰/۰ سال بوده و در گروه شاهد ۵۷ نفر (۴۷/۱درصد) مرد و ۶۴ نفر (۵۲/۹درصد) زن با میانگین (±انحراف معیار) سنی ۵۱±۱۶/۷ سال، بودند. همه افراد از نژاد ایرانی انتخاب شده و افراد غیر ایرانی از مطالعه خارج گردیدند.

سایر خصوصیات جمعیت مورد مطالعه از جمله سن، جنس و سیگاری بودن افراد بین دو گروه بیمار و شاهد مقایسه شد که در

جدول ۱ نشان داده شده است. با استفاده از تست آنالیز آماری Chi-Square مشخص شد که تفاوت معنی‌داری بین جنسیت و مصرف سیگار در دو گروه بیمار و شاهد وجود ندارد. نتایج تست آنالیز آمار T-Test نیز نشان داد که از لحاظ سن، اختلاف معنی‌داری بین دو گروه بیمار و شاهد وجود داشته و افراد بیمار دارای میانگین سنی بالاتری نسبت به گروه شاهد بودند.

جدول شماره (۱): متغیرهای بالینی به تفکیک گروه‌های شاهد، بیمار و کل جمعیت

متغیر		بیمار	کنترل	کل جمعیت	ارزشP
		تعداد(درصد)	تعداد(درصد)	تعداد(درصد)	
سن (میانگین ± انحراف معیار)		۶۱±۱۰/۰	۵۱±۱۶/۷	۵۶±۱۴/۸	۰/۰۰۰
جنسیت (%)	مرد	۶۲ (%۵۵/۹)	۵۷ (%۴۷/۱)	۱۱۹ (%۵۱/۳)	۰/۱۸۳
	زن	۴۹ (%۴۴/۱)	۶۴ (%۵۲/۹)	۱۱۳ (%۴۸/۷)	
مصرف سیگار	بله	۱۹ (%۱۷/۱)	۱۸ (%۱۴/۹)	۳۷ (%۱۵/۹)	۰/۶۴۱
	خیر	۹۲ (%۸۲/۹)	۱۰۳ (%۸۵/۱)	۱۹۵ (%۸۴/۱)	

نتیجه تعیین ژنوتیپ نمونه‌های افراد مبتلا به سرطان روده بزرگ غیر ارثی و شاهدهای سالم نشان می‌دهد که ژنوتیپ‌های پلی‌مورفیسم rs1635498 در جمعیت مورد بررسی به‌صورت زیر تعیین شده است:

درصد فراوانی ژنوتیپ‌های CC,CT,TT به‌ترتیب در گروه کنترل ۹۲/۶درصد ، ۷/۴درصد و ۰/۰درصد در بیماران ۹۰/۱درصد ، ۹/۰درصد و ۰/۹درصد بود. درصد فراوانی الل T وC در گروه کنترل به‌ترتیب ۹۶/۳درصد و ۳/۷درصد و در بیماران ۹۴/۶درصد و۵/۴درصد بود (جدول۳و۲). طبق نتایج حاصل از تعیین ژنوتیپ در گروه بیمار و شاهد، مشخص شد که فراوانی الل‌ها در هر دو گروه در تعادل هاردی – واینبرگ قرار دارد. P-value برای گروه کنترل ۰/۴۳۷ و برای گروه بیمار ۰/۲۶۶ محاسبه گردید. با توجه به نتایج به‌دست آمده، اختلاف معنی‌داری بین دو گروه بیمار و شاهد از نظر توزیع ژنوتیپی و اللی یافت نشد.

جدول شماره (۲): توزیع ژنوتیپی پلی‌مورفیسم rs1635498 در دو گروه کنترل و بیمار

ژنوتایپ	بیمار	کنترل	ORa (CI %۹۵)	ارزشp	ORb (CI %۹۵)	ارزشP
	تعداد(درصد)	تعداد(درصد)				
TT	۱۰۰(%۹۰/۱)	۱۱۲(%۹۲/۶)	۱ (مرجع)	--	۱ (مرجع)	--
CT	۱۰(%۹/۰)	۹(۷/۴%)	۱/۲۴۴ (۳/۱۸۶-۰/۴۸۶)	۰/۶۴۸	۱/۳۵۸ (۳/۷۵۲-۰/۴۹۲)	۰/۵۵۵
CC	۱(%۰/۹)	۰(۰/۰%)	(۰/۰۰۰)	۱	(۰/۰۰۰)	۱
CC+CT	۱۱(%۹/۹)	۹(%۷/۴)	۱/۳۶۹(۰/۵۴۵-۳/۴۳۹)	۰/۵۰۴	۱/۴۳۴ (۰/۵۲۸-۳/۸۹۹)	۰/۴۸۰

[a]تطبیق نیافته برای سن و جنس و مصرف سیگار

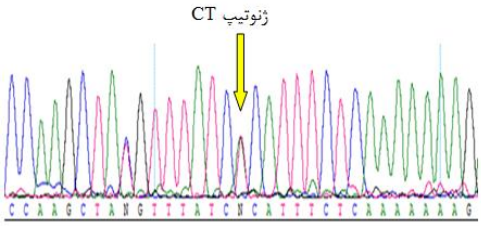
[b]تطبیق یافته برای سن و جنس و مصرف سیگار

جدول شماره (۳): درصد فراوانی الل T وC در دو گروه کنترل و بیمار

الل	در صد بیمار	درصد کنترل	OR (CI %۹۵)	Pارزش
T	%۹۴/۶	%۹۶/۳	۱	--
C	%۵/۴	%۳/۷	۱/۴۷۹ (۰/۶۱۱-۳/۵۸۱)	۰/۳۸۳

نتایج تحلیل آماری بر روی ژنوتیپ‌های تعیین‌شده در جایگاه پلی‌مورفیسم، نشان‌گر این موضوع بود که فراوانی الل‌ها در هر دو گروه در تعادل هاردی–واینبرگ قرار داشت.

برای تأیید یافته‌های PCR-RFLP، ۱۰درصد از نمونه‌ها با استفاده از دستگاه analyzer3130XI ABI genetic تعیین توالی شدند. یافته‌های حاصل از تعیین توالی PCR-RFLP را کاملاً تأیید کرد.در شکل ۲ ژنوتیپ CT قابل مشاهده است که همین ژنوتیپ با روش RFLP نیز تایید شده است.



شکل شماره (۲): تعیین توالی مستقیم، ژنوتیپCT

بحث و نتیجه گیری

نقص در ژن‌های ترمیم کننده بازهای جفت شده اشتباه DNA (MMR) یکی از مسیرهای مولکولی اصلی در ایجاد سرطان روده بزرگ غیرارثی است (۲،۳). ژن Exo1 تنها اگزونوکلئاز درگیر در سیستم MMR انسانی است. به‌دلیل نقش خاص Exo1 در سیستم MMR ،این ژن یک ژن هدف بارز و یک فاکتور مستعد کننده در سرطان کلورکتال محسوب می‌شود (۲،۶). در سال‌های اخیر مطالعات زیادی در ارتباط با پیوستگی این سرطان با پلی مورفیسم‌های Exo1 در نژادها و جمعیت‌های مختلف صورت گرفته است. از جمله مطالعه حقیقی و همکاران در سال ۲۰۱۰ که به بررسی پلی‌مورفیسم P757L ژن Exo1 و ارتباط آن با سرطان کلورکتال پرداخته و نتایج حاکی از وجود ارتباط معنی‌دار بین ژنوتیپ‌های این پلی‌مورفیسم بین دو گروه سالم و بیمار مبتلا به سرطان کلورکتال بود (۲). به‌طوری‌که افراد با ژنوتیپ TT ریسک ابتلا به سرطان کمتری را نشان دادند. در پلی مورفیسم rs۱۶۳۵۴۹۸ ژن Exo1 تغییر نوکلئوتید سیتوزین به تیمین منجر به جایگزینی اسید آمینه ۷۲۳ سیستئین با یک گروه سولفیدریل (-SH) به اسید آمینه آبدوست آرژنین با بار مثبت (دارای گروه گوانیدینیوم) می‌شود.از طرفی در بررسی ساختار سه بعدی پروتئین Exo1، این پلی‌مورفیسم در ناحیه‌ی اتصال به پروتئین MSH2 قرار دارد. در نتیجه این جایگزینی اسید آمینه می‌تواند باعث تغییر عملکرد پروتئین در راستای نقش ترمیم DNA شود. در مطالعه ما به‌عنوان اولین مطالعه از نوع خود در جمعیت ایرانی، توزیع ژنوتیپی و اللی پلی‌مورفیسم C>T (C723R) اگزون ۱۴ مورد بررسی قرار گرفت تا مشخص شود آیا این پلی‌مورفیسم می‌تواند به عنوان فاکتور ژنتیکی مرتبط با بروز سرطان کلورکتال در بیماران ایرانی مراجعه کننده به بیمارستان طالقانی تهران در نظر گرفته شود.

از آنجایی که پیش از این، مطالعه‌ای در مورد ارتباط پلی‌مورفیسم rs1635498 و سرطان روده بزرگ غیرارثی در جمعیت ایران منتشر نشده است، بررسی نتایج مطالعات مختلف می‌تواند تأییدی بر ناهمگونی فراوانی ژنوتیپ‌ها و الل‌های این جایگاه ژنی باشد. از این‌رو برای به‌دست آوردن دید کلی از وضعیت این پلی‌مورفیسم در جمعیت عمومی ایران مقایسه نتایج این مطالعه با بررسی‌های انجام شده بر روی بیماری‌های دیگر در جمعیت‌های مختلف، مفید خواهد بود.

مطالعه Ming-Hsui Tsai و همکاران در سال ۲۰۰۹ بر روی افراد مبتلا به سرطان دهان و کنترل سالم در جمعیت تایوانی صورت گرفت و نشان داد ارتباط معنی‌دار بین ژنوتیپ‌های مشاهده شده در دو گروه کنترل و بیمار وجود ندارد (۶).

مطالعه‌ای دیگر در سال ۲۰۰۹ توسط HsuNy و همکاران انجام شد. در این مطالعه ارتباط پلی‌مورفیسم C723R و سرطان ریه مورد بررسی قرار گرفت و پس از بررسی نتایج، عدم ارتباط این پلی‌مورفیسم با بیماری گزارش شد (۱۷).

عدم وجود همبستگی بین ژنوتیپ‌های این پلی‌مورفیسم و سرطان‌های مختلف با نتایج حاصل از این مطالعه هم‌خوانی دارد. یافته‌های مطالعه حاضر نشان داد، در جمعیت ایرانی مورد مطالعه، شاهدی مبنی بر همبستگی پلی مورفیسم C723R با افزایش یا کاهش خطر ابتلا به سرطان روده بزرگ غیر ارثی وجود ندارد.

بر اساس یافته‌های ما در این مطالعه، اختلاف معنی‌دار بین ژنوتیپ‌های پلی‌مورفیسم rs1635498 و سرطان کلورکتال وجود ندارد. از آنجایی که تا به‌حال مطالعه‌ای در ایران در مورد همبستگی پلی‌مورفیسم rs1635498 با سرطان روده بزرگ گزارش نشده، برای تعمیم نتایج حاصل از این مطالعه به همه

جمعیت ایرانی پیشنهاد می‌شود که بررسی با تعداد افراد بیشتر انجام شود.

References:

1. Azadeh S, Moghimi-Dehkordi B, Fatem SR, Pourhoseingholi MA, Ghiasi S, Zali MR. Colorectal cancer in Iran: an epidemiological study. Asian Pac J Cancer Prev 2008;9(1):123–6.
2. Haghighi MM, Taleghani MY, Mohebbi SR, Vahedi M, Fatemi SR, Zali N, et al. Impact of EXO1 polymorphism in susceptibility to colorectal cancer. Genet Test Mol Biomarkers 2010;14(5):649–52.
3. Wang WS, Chen PM, Su Y. Colorectal carcinoma: from tumorigenesis to treatment. Cell Mol Life Sci 2006;63(6):663–71.
4. Lynch HT, de la Chapelle A. Hereditary colorectal cancer. N Engl J Med 2003;348(10):919–32.
5. Kopnin BP. Targets of oncogenes and tumor suppressors: key for understanding basic mechanisms of carcinogenesis. Biochemistry Mosc 2000;65(1):2–27.
6. Tsai M-H, Tseng H-C, Liu C-S, Chang C-L, Tsai C-W, Tsou Y-A, et al. Interaction of Exo1 genotypes and smoking habit in oral cancer in Taiwan. Oral Oncol 2009;45(9):e90–94.
7. Nielsen FC, Jäger AC, Lützen A, Bundgaard JR, Rasmussen LJ. Characterization of human exonuclease 1 in complex with mismatch repair proteins, subcellular localization and association with PCNA. Oncogene 2004;23(7):1457–68.
8. Shemirani AI, Haghighi MM, Zadeh SM, Fatemi SR, Taleghani MY, Zali N, et al. Simplified MSI marker panel for diagnosis of colorectal cancer. Asian Pac J Cancer Prev 2011;12(8):2101–4.
9. Wei K, Clark AB, Wong E, Kane MF, Mazur DJ, Parris T, et al. Inactivation of Exonuclease 1 in mice results in DNA mismatch repair defects, increased cancer susceptibility, and male and female sterility. Genes Dev 2003;17(5):603–14.
10. Li G-M. DNA mismatch repair and cancer. Front Biosci 2003;8:d997–1017.
11. Xinarianos G, Liloglou T, Prime W, Maloney P, Callaghan J, Fielding P, et al. hMLH1 and hMSH2 expression correlates with allelic imbalance on chromosome 3p in non-small cell lung carcinomas. Cancer Res 2000;60(15):4216–21.
12. Jin G, Wang H, Hu Z, Liu H, Sun W, Ma H, et al. Potentially functional polymorphisms of EXO1 and risk of lung cancer in a Chinese population: A case-control analysis. Lung Cancer 2008;60(3):340–6.
13. Genschel J, Bazemore LR, Modrich P. Human exonuclease I is required for 5’ and 3’ mismatch repair. J Biol Chem 2002;277(15):13302–11.
14. Wang Y, Qin J. MSH2 and ATR form a signaling module and regulate two branches of the damage response to DNA methylation. Proc Natl Acad Sci USA 2003;100(26):15387–92.
15. Bardwell PD, Woo CJ, Wei K, Li Z, Martin A, Sack SZ, et al. Altered somatic hypermutation and reduced class-switch recombination in exonuclease 1-mutant mice. Nat Immunol 2004;5(2):224–9.
16. Sambrook J, Russell DW. Molecular Cloning: A Laboratory Manual. CSHL Press; 2001.
17. Hsu N-Y, Wang H-C, Wang C-H, Chiu C-F, Tseng H-C, Liang S-Y, et al. Lung cancer susceptibility and genetic polymorphisms of Exo1 gene in Taiwan. Anticancer Res 2009;29(2):725–30.

Original Article

THE ASSOCIATION BETWEEN EXONUCLEASE1 GENE POLYMORPHISM T>C (RS1635498) AND RISK OF SPORADIC COLORECTAL CANCER IN AN IRANIAN POPULATION

Zahra Akbari[1,2], Seyed Reza Mohebi[3], Mohammad Yahgoob Taleghani[4], Mahdi. Montazer Haghighi[5], Mohsen Vahedi[6], Hanie Mir Talebi[7], Pedram Azimzadeh[8], Sara Romani[9], Mohammad Reza Zali[10]*

Received: 22 May , 2013; Accepted: 11 Sep , 2013

Abstract:

Background & Aim: One of the important DNA repair systems is Mismatch Repair (MMR). Mutation in this system can cause different types of cancer. Exonuclease1 (Exo1) is the only exonuclease involved in the human MMR system. Since Exo1 plays a distinctive role in the MMR system, this gene has gained a great intrest as a potential risk factor in Colorectal Cancer (CRC). Single nucleotide polymorphisms (SNP) involve in increasing or decreasing the risk of CRC. In this study, to find a potential biomarker of CRC, we investigated the association between SNP of Exo1 gene, rs1635498, and risk of colorectal cancer in patients who had referred to Taleghani hospital.

Materials & Methods: This case-control study was performed on 111 cases and 121 healthy controls who had been registered in Taleghani hospital of Tehran. Genotyping analysis was performed by polymerase chain reaction-restriction fragment length polymorphism (PCR-RFLP) and use HPYCHVI restriction enzyme.

Result: According to our finding, while TT genotype was selected as a refrence, the frequency percent of TT, CT and CC genotypes in the patients were %90.1, %9.0, %0.9 and in the control group were %92.6, %7.4 and %0.0. We observed no significant difference. The frequency percent of T allele in the patients was %94.6 and in the controls were %96.3. Also the frequency percent of C allele were calculated in the patients and controls group respectively %5.4 and %3.7.

Conclusions: The findings indicated that rs1635498 polymorphism in Exo1 gene isn't associated with susceptibility to CRC. So, we conclude that this polymorphism doesn't have significant role in incresing or decreasing risk of CRC.

Keywords: SNP, Colorectal cancer (CRC), Exonuclease1 gene

Address: Gastroenterology and Liver Diseases Research Center, Shahid Beheshti University of Medical Sciences, Tehran, Iran ***Tel***: +98 21 22432514

Email: srmohebbi@gmail.com

SOURCE: URMIA MED J 2013: 24(8): 623 ISSN: 1027-3727

[1] *M.Sc. in Cellular and Molecular Sciences, Khatam University,Tehran, Iran*

[2] *M.Sc.in Molecular and Cellular, Gastroenterology and Liver Diseases Research Center, Shahid Beheshti University of Medical Sciences, Tehran, Iran*

[3] *Ph.D. in Medical Virology, Gastroenterology and Liver Diseases Research Center, Shahid Beheshti University of Medical Sciences, Tehran, Iran(Corresponding Author)*

[4] *M.Sc. (s) in Molecular and Cellular, Gastroenterology and Liver Diseases Research Center, Shahid Beheshti University of Medical Sciences, Tehran, Iran*

[5] *Ph.D. in Mollecular Genetic, Academic member of Islamic Azad Uiniversity, Department of Biology, Science faculty, East Tehran Branch, Science Faculty, Biology Department, Tehran, Iran*

[6] *Ph.D. Student in Biostatistic, Basic and Molecular Epidemiology of Gastrointestinal Disorders Research Center, Shahid Beheshti University of Medical Sciences, Tehran, Iran*

[7] *M.Sc. Student in Development of Biology, Gastroenterology and Liver Diseases Research Center, Shahid Beheshti University of Medical Sciences, Tehran, Iran*

[8] *M.Sc.in Molecular and Cellular, Gastroenterology and Liver Diseases Research Center, Shahid Beheshti University of Medical Sciences, Tehran, Iran*

[9] *M.Sc. in Microbiology Sciences, Gastroenterology and Liver Diseases Research Center, Shahid Beheshti University of Medical Sciences, Tehran, Iran*

[10] *Professor, Gastroenterology and Liver Diseases Research Center, Shahid Beheshti University of Medical Sciences, Tehran, Iran*