

بررسی ارتباط پلی مورفیسم rs1047840 G>A ژن اگزونوکلئاز ۱ با استعداد ابتلا به سرطان

روده بزرگ غیر ارثی

زهرا اکبری^{۱،۲}، سیدرضا محبی^{۳*}، محمد یعقوب طالقانی^۲، مهدی منتظر حقیقی^۴، محمد امین پورحسین قلی^۵، سید محمدحسین کشفی^۲، مهسا خوان یغما^۲، بهزاد دماوند^۲، محمدرضا زالی^۲

(۱) گروه زیست شناسی سلولی و مولکولی، دانشگاه غیرانتفاعی فاتم تهران

(۲) گروه زیست شناسی سلولی و مولکولی، مرکز تحقیقات بیماری های گوارش و کبد، دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی تهران

(۳) گروه ویروس شناسی، مرکز تحقیقات بیماری های گوارش و کبد، دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی تهران

(۴) گروه ژنتیک مولکولی، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد تهران شرق

(۵) مرکز تحقیقات علوم پایه و اپیدمیولوژی بیماری های دستگاه گوارش، دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی تهران

تاریخ پذیرش: ۹۱/۱۱/۱۸

تاریخ دریافت: ۹۱/۲/۴

چکیده

مقدمه: سرطان کلورکتال سومین سرطان شایع و دومین نوع از سرطان است که بیشترین مرگ های سرطانی را در دنیا به خود اختصاص داده است. آسیب های DNA و ناپایداری ژنومی از مهم ترین عوامل ایجاد کننده سرطان کلورکتال می باشند. اگزونوکلئاز ۱ (Exo1) تنها اگزونوکلئاز درگیر در سیستم ترمیم کننده بازهای جفت شده ناجور (MMR) است. در این مطالعه به دلیل نقش Exo1 و به منظور دستیابی به بیومارکرهای مستعد کننده سرطان کلورکتال به بررسی همبستگی پلی مورفیسم تک نوکلئوتیدی rs1047840 از ژن Exo1 و احتمال خطر ابتلا به سرطان روده بزرگ غیر ارثی در بیماران مراجعه کننده به بیمارستان طالقانی تهران می پردازیم.

مواد و روش ها: این مطالعه از نوع مورد-شاهدی بر روی ۱۱۸ بیمار مبتلا به سرطان روده بزرگ و ۱۳۰ فرد سالم به عنوان کنترل که به بیمارستان طالقانی شهر تهران مراجعه کرده بودند انجام گرفت. به منظور تعیین ژنوتیپ های پلی مورفیسم rs1047840 از ژن Exo1 از روش PCR-RFLP استفاده شد و در ادامه آنزیم محدودالتر MseI مورد استفاده قرار گرفت.

یافته های پژوهشی: بر طبق یافته های حاصل از این مطالعه، درصد فراوانی ژنوتیپ های AA,AG,GG به ترتیب در گروه کنترل ۴۹/۳ درصد، ۴۳/۸ درصد، ۶/۹ درصد و در گروه بیماران ۴۴/۹ درصد، ۴۷/۵ درصد، ۷/۶ درصد محاسبه گردید. هم چنین در صد فراوانی آلل های A و G به ترتیب ۷۱/۲ درصد و ۲۸/۸ درصد در افراد کنترل و ۶۸/۶ درصد، ۳۱/۴ درصد در بیماران تعیین گردید. بر اساس یافته های حاصل ارتباط معنی دار بین پلی مورفیسم rs1047840 و سرطان روده بزرگ در جمعیت مطالعه شده وجود نداشت.

بحث و نتیجه گیری: نتایج حاصل از این مطالعه نشان داد که ارتباط معنی دار بین پلی مورفیسم rs1047840 از ژن Exo1 و سرطان روده بزرگ غیر ارثی در جمعیت مطالعه شده وجود ندارد. بنا بر این می توان نتیجه گرفت که این پلی مورفیسم در افزایش یا کاهش خطر ابتلا به سرطان کلورکتال نقش معناداری ندارد.

واژه های کلیدی: سرطان کلورکتال (CRC)، ژن Exo1، پلی مورفیسم تک نوکلئوتیدی (SNP)

* نویسنده مسئول: گروه ویروس شناسی، مرکز تحقیقات بیماری های گوارش و کبد، دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی تهران

Email: srmohebbi@gmail.com

مقدمه

دارد، (۱۰). به طوری که بر طبق مطالعات صورت گرفته موش هایی که ژن Exo1 در آن ها غیر فعال شده بود، بقاء کمتر و افزایش احتمال ابتلا و پیشرفت لنفوما را نشان دادند. (۵،۹)

به دلیل نقش خاص ژن Exo1 در سیستم MMR، این ژن یک فاکتور مستعدکننده در سرطان کلورکتال محسوب می شود. (۲،۶)

با توجه به نقش ترمیمی پروتئین Exo1 و ارتباط آن با سرطان روده بزرگ و به منظور دستیابی به شاخص های زیستی مستعدکننده CRC، پلی مورفیسم rs1047840 از ژن Exo1 مورد مطالعه قرار گرفت. پلی مورفیسم rs1047840(K589E) یک پلی مورفیسم تک نوکلئوتیدی مهم از ژن Exo1 است که بر اساس سایت (NCBI) National Center for Biotechnology Information این پلی مورفیسم، از نوع بدمعنی (missense) بوده و در ناحیه اگزون ۱۲ ژن Exo1 قرار دارد. نتیجه این پلی مورفیسم جایگزینی اسید آمینه ۵۸۹ لیزین با بار مثبت، با اسید آمینه گلوتامیک با بار منفی می باشد.

جستجوی شاخص های زیستی، می تواند در تشخیص و درمان سرطان حائز اهمیت و سودمند باشد. بررسی اهمیت و تأثیر پلی مورفیسم های ژن Exo1 در مطالعات ژنتیکی و بالینی متعدد در نژادها و جمعیت های مختلف صورت گرفته و طیف گسترده ای از نتایج به دست آمده است. در مطالعات صورت گرفته پلی مورفیسم rs1047840 به طور قابل توجهی مورد بررسی قرار گرفته است. با توجه به مطالب ذکر شده هدف این مطالعه، بررسی ارتباط پلی مورفیسم rs1047840 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 روش ها

در این طرح ۱۱۸ بیمار مبتلا به سرطان روده بزرگ که جهت درمان یا تشخیص طی سال های ۱۳۸۷ تا ۱۳۸۸ به بیمارستان طالقانی تهران مراجعه کرده بودند و هم چنین ۱۳۰ فرد سالم شاهد، مورد

سرطان کلورکتال (روده بزرگ) سومین سرطان شایع و دومین نوع از سرطان است که بیشترین مرگ های سرطانی را در دنیا به خود اختصاص داده است. در کشورهای صنعتی بعد از سرطان ریه، دومین عامل مهم مرگ و میر ناشی از سرطان ها می باشد و اگر میزان مصرف سیگار کنترل گردد، سرطان کولون و رکتوم رتبه نخست مرگ و میر ناشی از سرطان را در جهان به خود اختصاص خواهد داد. در جمعیت ایران نیز روند شیوع این نوع از سرطان رو به افزایش است به طوری که سلامت جامعه را در معرض تهدید قرار داده است. (۱،۲)

مطابق آمار وزارت بهداشت ایران، این سرطان در زنان سومین و در مردان پنجمین سرطان محسوب می شود. در بیشتر مواقع سرطان روده بزرگ از طریق دو مسیر مولکولی اصلی ایجاد می گردد. یکی مسیر مهار-کنندگی، که به وسیله جهش های متوالی در انکوژن ها و ژن های سرکوب گر تومور ایجاد می گردد و دیگری مسیر جهش زایی، که به وسیله نقص در ژن های ترمیم کننده بازهای جفت شده اشتباه DNA mismatch repair (MMR) شناسایی می شود، (۳،۴). سیستم MMR یکی از مسیرهای اصلی ترمیم DNA در سلول های انسانی است که به حفظ پایداری ژنومیک، نوترکیبی DNA و میانجی گری جهت توقف چرخه سلولی کمک می کند. (۵،۶). در نتیجه عملکرد صحیح این سیستم در جلوگیری از سرطان زایی مهم می باشد. (۷،۸)

اگزونوکلئاز ۱ (Exo1) تنها اگزونوکلئاز درگیر در سیستم MMR انسانی است. ژن Exo1 بر روی کروموزوم شماره ۱ (q۴۳-q۴۲) قرار گرفته و طول آن ۴۲kb می باشد. این ژن دارای یک اگزون ترجمه نشدنی است که به دنبال ۱۳ اگزون قابل ترجمه قرار گرفته است، (۹). پروتئین کد شده توسط این ژن 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 می کند، (۲). تصحیح جفت شدگی های ناجور در سیستم MMR به فعالیت هیدرولیتیکی Exo1 بستگی

دمای ۷۲ درجه سانتی گراد به منظور تکثیر و در پایان ۱۰ دقیقه دمای ۷۲ درجه به منظور تکثیر پایانی انجام شد. جهت تایید تکثیر، محصول PCR با استفاده از ژل آگارز ۱ درصد، الکتروفورز گردید. پس از حصول اطمینان، جهت تعیین ژنوتیپ این پلی مورفیسم، از روش هضم آنزیمی محدودکننده (RFLP) (Restriction Frequent Length Polymorphism) استفاده شد. در این روش در آغاز آنزیم مناسب با استفاده از سایت شرکت NEW ENGLAND Biolabs (tools.neb.com/NEB-cutter2/) برای جایگاه پلی مورفیسم مورد نظر انتخاب شد.

محصولات PCR در مجاورت آنزیم محدودالتر MseI (Cat#R0525S) انتخاب شده، در دمای ۳۷ درجه سانتی گراد به مدت ۵ ساعت مورد هضم قرار گرفتند. توالی مورد شناسایی توسط این آنزیم ttAa است که نوکلئوتید دارای پلی مورفیسم مورد نظر با حرف بزرگ نشان داده شده است. سپس الگوی برش حاصله را از طریق الکتروفورز بر روی ژل آگارز ۲ درصد مورد بررسی قرار داده و از الگوهای حاصله عکس تهیه شد. با توجه به جایگاه شناسایی و برش آنزیم، در صورتی که نوکلئوتید A در هر دو الل وجود داشته باشد (ژنوتیپ AA)، آنزیم یک برش در محصول PCR ایجاد می‌کند. به عبارتی تمام رشته‌ها برش خورده و دو قطعه به طول‌های ۱۵۲ نوکلئوتید و ۱۰۵ نوکلئوتید خواهیم داشت. در صورت وجود نوکلئوتید A در یک الل (ژنوتیپ AG) به دلیل شناسایی شدن توالی نیمی از رشته‌ها توسط آنزیم سه قطعه خواهیم داشت که اندازه هر یک به ترتیب ۲۵۷ نوکلئوتید و ۱۵۲ نوکلئوتید و ۱۰۵ نوکلئوتید می‌باشد و در صورت وجود نوکلئوتید G در هر دو الل این پلی مورفیسم (ژنوتیپ GG)، هیچ برشی ایجاد نمی‌شود و محصول PCR دست نخورده باقی می‌ماند و تنها یک قطعه ۲۵۷ نوکلئوتیدی قابل مشاهده است. (شکل شماره ۱)

مطالعه قرار گرفت. همه افراد ایرانی بوده و افراد غیرایرانی از مطالعه خارج گردیدند.

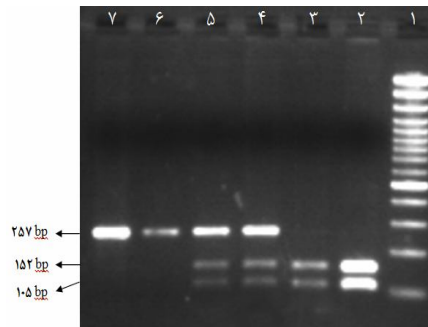
بیماران از نظر پاتولوژی و علایم بالینی مبتلا به سرطان روده بزرگ غیرارثی بوده و افرادی که دارای نتایج پاتولوژی منفی بودند، به عنوان شاهد سالم انتخاب شدند. به کلیه بیماران و کنترل‌ها در مورد نحوه استفاده از نتایج و داوطلبانه بودن حق شرکت و یا عدم شرکت در این مطالعه توضیح داده شد و از داوطلبین، رضایت نامه کتبی اخذ گردید. فرم رضایت نامه اخلاقی 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 افراد بیمار و کنترل، جهت انجام آزمایشات ژنتیکی (PCR-RFLP) نمونه خون محیطی به میزان پنج سی سی 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، (۱۱). بدین منظور DNA ژنومی با استفاده از روش استاندارد فنل-کلروفرم از خون محیطی استخراج شده، (۱۱)، و توالی پلی مورفیسم rs1047840 با استفاده از پرایمرهای اختصاصی زیر که توسط نرم افزار Gene Runner version 3.05 طراحی شده بودند،

۳'-AGATGTAGCACGTAATTCAACTG
Forward: ۵'-

۳'-AATCGCTCTTTCTTCGGAAGCTG
Reverse:

تکثیر گردید. در این مطالعه جهت انجام PCR از دستگاه eppendorf mastercycler gradient ساخت کشور آلمان استفاده شد. شرایط و برنامه PCR به این ترتیب بود: نخست ۵ دقیقه واسرشت اولیه در دمای ۹۵ درجه سانتی گراد انجام گرفت سپس ۳۰ چرخه با این برنامه پیش رفت: ۴۵ ثانیه واسرشت با دمای ۹۵ درجه سانتی گراد، ۴۰ ثانیه دمای ۶۱ درجه سانتی گراد به منظور اتصال پرایمرها، ۴۵ ثانیه در

شکل شماره ۱. قطعات حاصل از هضم با آنزیم MseI. ۱- سایز مارکر ۱۰۰ جفت باز (DNA ladder)، ۲ و ۳- ژنوتیپ AA، ۴ و ۵- ژنوتیپ AG، ۶ و ۷- ژنوتیپ GG



درصد) سالم مورد بررسی قرار گرفتند. بیماران با توجه به رسم شجره نامه، نتایج پاتولوژی و علائم بالینی، در گروه غیرارثی قرار گرفتند. گروه بیماران شامل، ۶۴ نفر مرد (۵۴/۲ درصد) و ۵۴ نفر زن (۴۵/۸ درصد) با میانگین (±انحراف معیار) سنی ۶۱/۳±۱۰/۳ سال بوده و گروه کنترل ۵۹ نفر مرد (۴۵/۳ درصد) و ۷۱ نفر زن (۵۴/۷ درصد) با میانگین (±انحراف معیار) سنی ۵۰/۴±۱۶/۷ سال، بودند.

سایر خصوصیات جمعیت مورد مطالعه از جمله سن، جنس و سیگاری بودن افراد بین دو گروه بیمار و شاهد مقایسه شد که در جدول شماره ۱ نشان داده شده است.

آنالیز تمام محصولات بر روی ژل آگارز ۲ درصد انجام شد و رنگ آمیزی ژل ها با استفاده از اتیدیوم برمایند صورت گرفت. تجزیه و تحلیل اطلاعات با استفاده از آزمون کای اسکوئر و متغیرهای کمی، با آزمون T-Test صورت پذیرفت. هم چنین نسبت شانس (OR) و حدود اطمینان ۹۵ درصد، توسط رگرسیون لجستیک محاسبه گردید. مقدار P کمتر از ۰/۰۵ به عنوان سطح معنی دار در نظر گرفته شد. کلیه آنالیزها با استفاده از نرم افزار SPSS vol.13 صورت گرفت.

یافته های پژوهش

در این طرح ۲۴۸ نفر شامل ۱۱۸ فرد (۴۸ درصد) مبتلا به سرطان روده بزرگ (گروه بیمار) و ۱۳۰ فرد (۵۲ درصد)

جدول شماره ۱. متغیرهای بالینی به تفکیک گروه های شاهد، بیمار و کل جمعیت

متغیر	بیمار	کنترل	کل جمعیت	P ارزش
تعداد (درصد)	تعداد (درصد)	تعداد (درصد)	تعداد (درصد)	
سن (میانگین ± انحراف معیار)	۶۱/۳±۱۰/۳	۵۰/۴±۱۶/۷	۵۵/۵±۱۵/۱	۰/۰۰۰
جنسیت (%)	مرد	۵۹ (۴۵/۳)	۱۲۳ (۴۹/۶)	۰/۲۰۳
	زن	۵۴ (۴۵/۸)	۱۲۵ (۵۰/۴)	
مصرف سیگار	بله	۱۹ (۱۴/۱)	۳۸ (۱۵/۳)	۰/۸۶۰
	خیر	۹۹ (۸۳/۹)	۲۱۰ (۸۴/۷)	

در افراد کنترل سالم، ۶۴ نفر (۴۹/۳ درصد) هموزیگوت GG، ۵۷ نفر (۴۳/۸ درصد) هتروزیگوت AG و ۹ نفر (۶/۹ درصد) هموزیگوت AA مشاهده گردید. درصد فراوانی الل G در گروه بیمار ۶۸/۶ درصد و در گروه کنترل ۷۱/۲ درصد و درصد فراوانی الل A در بیماران ۳۱/۴ درصد و در گروه شاهد ۲۸/۸ درصد تعیین گردید. (جدول شماره ۲ و ۳)

نتیجه تعیین ژنوتیپ نمونه های افراد مبتلا به سرطان روده بزرگ غیر ارثی و شاهد های سالم نشان می دهد که ژنوتیپ K589E در جمعیت مورد بررسی به صورت زیر توزیع شده است: در افراد بیمار، ۵۳ نفر (۴۴/۹ درصد) هموزیگوت GG، ۵۶ نفر (۴۷/۵ درصد) هتروزیگوت AG و ۹ نفر (۷/۶ درصد) هموزیگوت AA تعیین شده است.

طبق نتایج حاصل از تعیین ژنوتیپ در گروه بیمار و کنترل، مشخص شد که فراوانی آلل ها در هر دو گروه در تعادل هاردی-واینبرگ قرار داشت به طوری - که P برای گروه شاهد ۰/۴۳۷ و برای گروه بیمار ۰/۲۶۶ محاسبه گردید. پس از آنالیز آماری نتایج، اختلاف معنی داری بین

دو گروه بیمار و شاهد از نظر فراوانی ژنوتیپی و اللی یافت نشد. طبق نتایج به دست آمده اختلاف معنی دار در فراوانی آلل موتانت (A) و طبیعی (G) بین دو گروه بیمار و کنترل وجود نداشت. (P=0.543) توزیع ژنوتیپ های مختلف در دو گروه شاهد و بیمار در جدول شماره ۲ گزارش شده است.

جدول شماره ۲. توزیع ژنوتیپی پلی مورفیسم rs1047840 در دو گروه کنترل و بیمار

ژنوتایپ	بیمار تعداد(درصد)	کنترل تعداد(درصد)	OR ^a (CI %۹۵)	ارزش P	OR ^b (CI %۹۵)	ارزش P
GG	۵۳(۴۴/۹)	۶۴(۴۹/۳)	(مرجع)	--	۱ (مرجع)	--
AG	۵۶(۴۷/۵)	۵۷(۴۳/۸)	۱/۱۸۶ (-۱/۹۹۲)	۰/۵۱۸	۱/۱۰۶ (-۱/۹۳۹)	۰/۷۲۵
AA	۹(۷/۶)	۹(۶/۹)	۱/۲۰۸ (۰/۴۴۷-)	۰/۷۱۰	۱/۴۳۹ (۰/۴۹۶-)	۰/۵۰۳
AA+AG	۶۵(۵۵/۱)	۶۶(۵۰/۸)	۱/۱۸۹ (۰/۷۲۱-)	۰/۵۰۴	۱/۴۳۹ (۰/۴۹۶-)	۰/۶۱۹
			۱/۹۶۰)		۱/۹۷۱)	

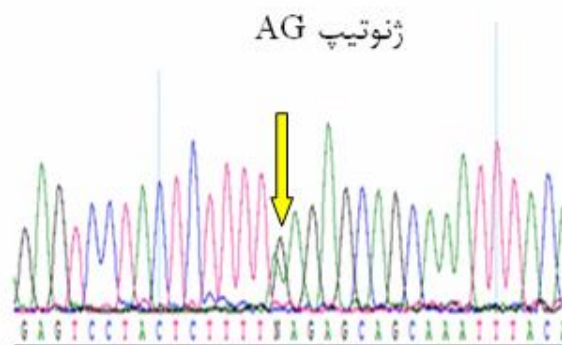
a تطبیق نیافته برای سن، جنس و مصرف سیگار
b تطبیق یافته برای سن، جنس و مصرف سیگار

جدول شماره ۳. درصد فراوانی آلل G و A در دو گروه کنترل و بیمار

آلل	در صد بیمار	درصد کنترل	OR	ارزش P
G	۶۸/۶	۷۱/۲	۱	--
A	۳۱/۴	۲۸/۸	۱/۱۲۷ (۰/۷۶۷-۱/۶۵۵)	۰/۵۴۳

کاملاً تأیید نمود. در شکل شماره ۲ ژنوتیپ AG برای پلی مورفیسم rs1047840 قابل تشخیص می باشد که همین ژنوتیپ به وسیله تکنیک RFLP نیز تأیید شد.

برای تأیید یافته های PCR-RFLP، ۱۰ درصد از نمونه ها با استفاده از دستگاه ABI genetic analyzer 3130XI تعیین توالی شدند. یافته های حاصل از تعیین توالی، نتایج روش PCR-RFLP را



شکل شماره ۲. تعیین توالی مستقیم پلی مورفیسم rs1047840، ژنوتیپ AG

این پلی مورفیسم در جایگاه (Exonic Splicing Enhancer) قرار دارد، در نتیجه این تغییر اسید آمینه می تواند میزان محصول mRNA Exo1 را تحت تأثیر قرار دهد. (۹)

مطالعات متعدد بر روی این پلی مورفیسم بر روی انواع سرطان ها و جمعیت های مختلف نشان داد که می توان از پلی مورفیسم K589E به عنوان بیومارکر برای برخی از سرطان ها استفاده کرد.

نتایج تحقیقی در تایوان توسط مینگ و همکاران انجام شد نشان داد که افراد با ژنوتیپ AA یا AG، ۲/۰۷ درصد احتمال بیشتری در ابتلا به سرطان دهان در مقایسه با افراد با ژنوتیپ GG داشته و ال A این پلی مورفیسم می تواند فعالیت Exo1 را تحت تأثیر قرار دهد. (۶). بررسی دیگر بر روی این پلی مورفیسم در سال ۲۰۰۹، توسط هسیونی و همکاران صورت گرفت. بر طبق نتایج حاصل از این مطالعه، ارتباط معنی داری بین این پلی مورفیسم و ابتلا به سرطان ریه وجود داشت، به طوری که افراد سیگاری واجد ژنوتیپ AA و AG افزایش خطر ابتلا به سرطان ریه را نشان می دهند. در این مطالعه مطرح شد که ال A پلی مورفیسم rs1047840 با پیشرفت سرطان ریه همبستگی داشته و می تواند به عنوان یک بیومارکر کاربردی جهت پیشگیری استفاده گردد. (۱۳). مطالعه مشابهی بر روی همین نوع از سرطان در سال ۲۰۰۷ توسط کیانگ فوو همکاران پیوستگی این پلی مورفیسم با سرطان ریه در جمعیت چین مورد ارزیابی قرار گرفت. طبق نتایج منتشر شده اختلاف معنی دار بین دو گروه بیمار مبتلا به سرطان ریه و شاهد سالم وجود داشت. (۹). بر خلاف مطالعه قبل، در این بررسی نشان داده شد که در جمعیت چینی ژنوتیپ های GG و AG، ۴۱ درصد ریسک ابتلا به سرطان بالاتری داشته و این بار ال G با پیشرفت سرطان ریه ارتباط معنی دار داشت. در برخی از مطالعات نیز ارتباط معنی داری بین این پلی - مورفیسم و بیماری یافت نشد. بر طبق مطالعه زینولدینی و همکاران در سال ۲۰۰۶، اختلاف معنی داری بین ژنوتیپ های این پلی مورفیسم در دو گروه بیمار و شاهد سالم یافت نشد و وابستگی معنی داری

طبق نتایج به دست آمده از مطالعه اخیر در رابطه با تأثیر این پلی مورفیسم در ابتلا به سرطان روده بزرگ غیرارثی با مقایسه دو گروه بیمار و کنترل، اختلاف معنی داری بین ژنوتیپ ها و سرطان روده بزرگ وجود نداشت.

بحث و نتیجه گیری

Exo1 تنها اگزونوکلئاز درگیر در سیستم MMR انسانی است. به دلیل نقش خاص Exo1 در سیستم MMR، این ژن یک فاکتور مستعدکننده در سرطان روده بزرگ محسوب می شود. (۲۶). بر طبق مطالعه بردول و همکاران، موش های فاقد اگزون ۶ ژن Exo1 دارای نقص در سیستم MMR خواهند بود. (۹،۱۲). در سال های اخیر مطالعات زیادی در ارتباط با پیوستگی انواع مختلف سرطان ها با پلی مورفیسم های Exo1 انجام شده است.

در این راستا می توان به مطالعه حقیقی و همکاران در سال ۲۰۱۰ اشاره کرد که به بررسی پلی مورفیسم P757L ژن Exo1 و ارتباط آن با سرطان کلورکتال پرداخته و نتایج حاکی از وجود ارتباط معنی دار بین ژنوتیپ های این پلی مورفیسم در دو گروه سالم و بیمار مبتلا به سرطان روده بزرگ بود به طوری که افراد با ژنوتیپ TT ریسک ابتلا به سرطان کمتری را نشان دادند. (۲)

در مطالعه ما به عنوان اولین مطالعه از نوع خود در جمعیت ایرانی، توزیع ژنوتیپی و الی پلی مورفیسم G>A (rs1047840) اگزون ۱۲ مورد بررسی قرار گرفت تا مشخص شود آیا این پلی مورفیسم می تواند به عنوان فاکتور ژنتیکی مرتبط با بروز سرطان کلورکتال در بیماران ایرانی مراجعه کننده به بیمارستان طالقانی تهران در نظر گرفته شود.

نتیجه پلی مورفیسم rs1047840 (K589E) تبدیل اسید آمینه ۵۸۹ لیزین با بار مثبت به اسید آمینه گلوتامیک با بار منفی است. فرضیه ای که برای علت همبستگی مستقیم بین سرطان روده بزرگ و پلی مورفیسم rs1047840 ژن Exo1 وجود دارد این است که این تغییر می تواند بر ساختار داخلی و اتصال پروتئین-پروتئین اثر بگذارد. هم چنین از آن جایی که

این مطالعه به همه جمعیت ایرانی پیشنهاد می شود که مطالعه بر روی افراد بیشتر صورت گیرد.

سپاسگزاری

در پایان از همکاران محترم مرکز تحقیقات گوارش و کبد دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی کمال تشکر و قدردانی را داریم.

وجود نداشت،(۱۴). بر طبق نتایج حاصل از این مطالعه در جمعیت ایران، بین پلی مورفیسیم rs1047840 با سرطان روده بزرگ غیرارثی ارتباط معنی دار وجود ندارد. از آن جایی که تا به حال مطالعه ای در ایران در مورد همبستگی پلی مورفیسیم rs1047840 با سرطان روده بزرگ گزارش نشده، برای تعمیم نتایج حاصل از

References

- 1-Azadeh S, Moghimi-Dehkordi B, Fatem S, pourhoseingholi MA, Ghiasi S, Zali MR. Colorectal cancer in Iran: an epidemiological study. *Asian Pacific J Can Prevent* 2008;9:123-6.
- 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 Biomark* 2010;14:649-52.
- 3-Wang W, Chen P, Su Y. Colorectal carcinoma: from tumorigenesis to treatment: *Cell Mol Life Sci* 2006;63:663-71.
- 4-Lynch HT, de la Chapelle A. Hereditary colorectal cancer: *N Engl J Med* 2003; 348:919-32.
- 5-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. *Gene Develop* 2003;17:603-14.
- 6-Tsai MH, Tseng HC, Liu CS, Chang CL, Tsai CW, Tsou YA, et al. Interaction of Exo1 genotypes and smoking habit in oral cancer. *Oral Oncology* 2009;45:e90-e4.
- 7-Li GM. DNA mismatch repair and cancer. *Front Biosci* 2003;8:1017-997.
- 8-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. *Can Res* 2000;60:4216-21.
- 9-Jin G, Wang H, Hu Z, Liu H, Sun W, Ma H, Chen D, et al. Potentially functional polymorphisms of EXO1 and risk of lung cancer in a Chinese population: A case-control analysis. *Lung Can* 2008; 60:340-6.
- 10-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; 100:15387-92.
- 11-Sambrook J, Russell DW. *Molecular cloning: a laboratory manual*. Cold Spring Harbor: Laboratory Press; 2001.
- 12-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. *Nature Immunol* 2004;5:224-9.
- 13-Hsu NY, Wang HC, Wang CH, Chiu CF, Tseng HC, Liang SY, et al. Lung cancer susceptibility and genetic polymorphisms of Exo1 gene in Taiwan. *Anticancer Res* 2009;29:725-30.
- 14-Zienolddiny S, Campa D, Lind H, Ryberg D, Skaug V, Stangeland L, et al. Polymorphisms of DNA repair genes and risk of non-small cell lung cancer. *Carcinogenesis* 2006;27:560-7.



Evaluating the Association Between the G>A rs1047840 Polymorphism of Exonuclease-1 Gene and Risk of Nonhereditary Colorectal Cancer

Akbari Z^{1,2}, Mohebi S.R^{3*}, Yaghoob taleghani M², Montazer haghghi M⁴, Pour hossein gholi A⁵, Kashfi S.M.H², Khan Yaghma M², Damavand B², Zali M.R²

(Received: 21 Aprl. 2012

Accepted: 6 Feb. 2013)

Abstract

Introduction: Colorectal cancer(CRC) is the third most common cancer and the second leading cause of cancer death in the world. DNA damages and chromosomal instability are the greatest risk factors favoring the development of CRC. Exo1 is the only exonuclease involved in the (Mismatch Repair) MMR system. Regarding the importance of Exo1 and in order to find the CRC predisposing biomarkers, we investigated the correlation between a single nucleotide polymorphism of Exo1 gene, rs1-047840, and risk of CRC.

Materials & Methods: This case-control study was performed on 118 patients with colon cancer and 130 healthy subjects who referred to the Taleghani hospital in Tehran. Genotyping was conducted using polymerase chain reaction- restriction fragment length polymorphism (PCR-RFLP) and the restriction enzyme, MseI.

Findings: According to our findings, the percentage frequency of AA, AG, GG genotypes in control group were 49.3%, 43.8% and 6.9% and in patient group were 44.9%, 47.5% and 7.6%, respectively. Also, the percentage frequency of G and A alleles in healthy controls were 71.2% and 28.8% in patients were 68.6% and 31.4%, respectively.

Discussion & Conclusion: Base on our findings, rs1047840 polymorphism is not associated with the susceptibility to CRC and so, we concluded that this polymorphism may have not a significant role in increasing or decreasing the risk of CRC.

keywords: colorectal cancer(CRC), Exo1 gene, single nucleotide polymorphism- (SNP)

1.Dept of Cellular and Molecular Sciences, Khatam University, Tehran, Iran

2.Dept of Cellular & Molecular Sciences, Gastroenterology and Liver Diseases Research Center, Shahid Beheshti University of Medical Sciences, Tehran, Iran

3.Dept of Medical virology, Gastroenterology and Liver Diseases Research Center, Shahid Beheshti University of Medical Sciences, Tehran, Iran

4.Dept of Molecular Genetic, Faculty of Science, East Tehran Branch, Islamic Azad University, Tehran, Iran

5.Research Center for Basic Sciences and Epidemiology of Gastrointestinal Disorders, Shahid Beheshti University of Medical Sciences, Tehran, Iran

* (corresponding author)