بررسی متیلاسیون پروموتر ژن E-cadherin و پلی مورفیسم اینترلوکین ۱۷ در بیماران مبتلا به سرطان پستان

سیروس نعیمی*[۱]

۱) گروه ژنتیک، دانشکده علوم پایه، واحد کازرون، دانشگاه آزاد اسلامی، کازرون، ایران

تاریخ دریافت: ۱۳۹۶/۲/۱۲ تاریخ پذیرش: ۱۳۹۶/۳/۶

چکیده

مقدمه: ژن پروتئین E-cadherin با متاستاز و پیش آگهی در سرطان همراه می باشد و متیلاسیون پروموتر ژن منجر به کاهش بیان ژن می گردد. اینترلوکین ۱۷ به عنوان یک سایتوکاین التهابی، می تواند نقش موثری در ایجاد متیلاسیون داشته باشد. در این تحقیق ما به بررسی نقش پلی مورفیسم اینترلوکین ۱۷ بر متیلاسیون پروموتر ژن E-cadherin در سرطان پستان پرداخته ایم.

مواد و روش ها: در این تحقیق موردی–شاهدی، از بافت سرطانی ۴۰ بیمار مبتلا به بیماری سرطان پستان و ۴۰ زن سالم، DNA استخراج گردید. جهت بررسی متیلاسیون پروموتر ژن E-cadherin، از روش MSPCR استفاده گردید و جهت تعیین پلی مورفیسم اینترلوکین ۱۷ از روش PCR-RFLP استفاده شد.

یافته های پژوهش: نتایج نشان دادند که میان متیلاسیون پروموتر ژن E-cadherin و بیماری سرطان پستان ارتباط معنی داری وجود دارد($P<0.05$) از طرف دیگر کاهش معنی داری را در هتروزیگوتی پروموتر ژن ذکر شده در بیماران نسبت به گروه کنترل مشاهده می گردد($P<0.05$). هم چنین نتایج حاکی از این مطلب می باشد که پلی مورفیسم اینترلوکین ۱۷ بر روی متیلاسیون ژن E-cadherin تاثیری ندارد.

بحث و نتیجه گیری: به نظر می رسد که متیلاسیون پروموتر ژن E-cadherin با احتمال ابتلاء به بیماری سرطان در ارتباط می باشد.

واژه های کلیدی: متیلاسیون، E-cadherin، سرطان پستان، پلی مورفیسم، اینترلوکین ۱۷

* نویسنده مسئول: گروه ژنتیک، دانشکده علوم پایه، واحد کازرون، دانشگاه آزاد اسلامی، کازرون، ایران

Email:naeimis@kau.ac.ir

Copyright © 2018 Journal of Ilam University of Medical Science. This is an open-access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution international 4.0 International License (https://creativecommons.org/licenses/by-nc/4.0/) which permits copy and redistribute the material, in any medium or format, provided the original work is properly cited.

[Downloaded from sjimu.medilam.ac.ir on 2024-03-29]

[DOI: 10.29252/sjimu.26.4.94]

مقدمه

سرطان پستان، شایع ترین بدخیمی در خانم ها است طبق آمار ارائه شده توسط مرکز ثبت سرطان در منطقه تابعه دانشگاه علوم پزشکی کاشان، مبتلایان به سرطان پستان در طی سال های ۱۳۸۰ لغایت ۱۳۹۰، ۴۶۴ نفر بوده است که شایع ترین سرطان در طی این ۱۰ سال در زنان، سرطان پستان بوده است(۱). در مطالعه انجام شده توسط علی زاده و همکاران، سالانه شش تا یک صد و شش نفر به این بیمـــاری مبتلا می گردند و ۱۰۶۳ نفر در سال به علت این بیماری، فوت می نمایند(۲). حدود ۹۵-۹۰ درصد موارد سرطان پستان را فرم اسپورادیک تشکیل می دهـــند و حدود ۵-۱۰ درصد ممکن است به دلیل جهش هایی در برخی ژن های مستعدکننده سرطان پستان که به صورت اتوزومال غالب به ارث می رسند، باشد. از جمله ژن های مرتبط معروف می توان به BRCA1، BRCA2، P53، ATM، Pten اشاره نمود. در ۹۰-۸۰ درصد موارد سرطان پستان فامیلی نقص در ژن های BRCA1 و BRCA2 وجـــود دارد(۳،۴). از میـــان مکانیسم های مولکولی پیگیری شده در ایجاد سرطان پستان، تاکنون موتاسیون های ژنتیکی نقش خود را اثبات نموده اند. با این حال، امروزه مکانیسم های اپی ژنتیکی به عنوان یک فاکتور مشخص در توسعه سرطان پستان شناخته می شوند. اپی ژنتیک به معنای تغییر در بیان ژن بدون تغییر در سکانس ژن می باشد. اپی ژنتیک نقش های متعددی در فرآیندهای بیولوژیکی ایفا می کند که از جمله می توان به غیر فعال شدن کروموزوم X، حک گذاری ژنتیکی، تداخل RNA و برنامه ریزی مجدد ژنومی در خلال تمایز که منجر به خاموش شدن ژن می گردد، اشاره نمود(۵). نقصان در هر یک از این عملکردها ممکن است منجر به اختلالاتی در انسان می گردد که از جمله این اختلالات می توان به سرطان پستان اشاره نمود. در سلول های ترانسفورم شده به سلول های سرطانی، تغییرات اپی ژنتیکی در سطح کروموزومی رخ می دهد که از جمله می توان به متیلاسیون DNA، تغییرات هیستونی، و تغییرات به وجود آمده در عملکرد و بیان فاکتورهای دخیل در تنظیم فرآیندهای سر هم شدن و باز آرائی نوکلئوزوم، اشاره نمود(۵،۶). اتصال سلول به سلول باعث مشخص شدن شارژ الکتریکی و شرکت سلول در تمایز و پایداری هوموستاز بافت می گردد. در خلال فرآیند سرطان زائی، این اتصال ارگانیزه شده، دچار تخریب می شود که این تخریب در اثر تغییرات ژنتیکی و اپی ژنتیکی رخ می دهد. تغییرات ژنتیکی و اپی ژنتیکی منجر به تغییر در پیام رسانی، از دست رفتن ممانعت اتصالی و اختلالاتی در مهاجرت سلولی و کنش واکنش ماتریکسی می گردد(۷).

یکی از مهم ترین مولکول ها دخیل در اتصال سلول به سلول، خانواده E-Cadherin ها می باشند. E-Cadherin ها به طور مشخص توانایی سرکوب تهاجم و متاستاز سلول های سرطانی را دارند(۸). اکثر سرطان های انسانی از نوع کارسینوما هستند که از بافت های اپی تلیال مشتق شده اند. در این بافت ها E-Cadherin یا کادهرین ها، وابسته به نمونه اصلی هستند. سرطان های اپی تلیال اغلب در هنگام شروع تمایز به سمت بدخیمی، مولکول E-Cadherin خود را یا کاملاً و یا به طور نسبی از دست می دهند که این امر در مورد سرطان تخمدان مشهودتر است و به نظر می رسد یک نقش اساسی در سرطان زائی در این ارگان را دارد(۹). نقش این مولکول در سرطان پستان التهابی که یک فرم مشخص و پیشرفته سرطان پستان است، نیز مشخص شده است. در این بیماری، مولکول E-Cadherin به طور مشخص در بافت های سرطانی کاهش یافته است(۱۰).

با این حال اکثر مطالعات نقش ضد تهاجمی و ضد متاستازی مولکول E-Cadherin را نشان داده است. بدین صورت که نقش احتمالی آن در جدایی مولکول بتا کاتنین در کمپلکس اتصالی E-Cadherin-کاتنین می باشد(۱۱). ژن E-Cadherin بر روی بازوی بلند کروموزوم شماره ۱۶ (16q1-22) قرار دارد. مطالعات انجام شده حاکی از این مطلب است که از دست دادن هتروژنسیته در بازوی بلند کروموزوم شماره ۱۶ در سرطان های گاســـتریک، پروســـتات و هپاتوسلولار همراهی دارد(۹). این امر با فرکانس های متفاوتی در سرطان پستان دیده شده است. بدین صورت که در مورد داکتال کارسینوما با ۵۰ درصد همراهی و در مورد

[Downloaded from sjimu.medilam.ac.ir on 2024-03-29]

[DOI: 10.29252/sjimu.26.4.94]

سرطان laboular این امر حتی با درصد بالاتری دیده شده است.(۱۲،۱۳) شواهدی زیادی حاکی از این است که متیلاسیون جزایر CpG با غیر فعال شدن فعالیت نسخه برداری همراه است. مکانیسم های متعددی در این مورد پیشنهاد شده است. یکی از این مکانیسم ها به این موضوع اشاره دارد که متیلاسیون محل های اتصال فاکتورهای نسخه برداری از قبیل AP-2, E2F و NF_kB به طور مستقیم باعث مهار نسخه برداری می گردد(۱۴). لذا با توجه به اهمیت بیماری سرطان پستان و نقش مولکول E-Cadherin در متاستاز سرطان، در این تحقیق به بررسی میزان متیلاسیون پروموتر ژن مذکور و مقایسه آن با گروه کنترل پرداخته شده است.

مواد و روش ها

گروه مورد مطالعه شامل ۴۰ نفر مبتلا به سرطان پستان با میانگین سنی ۱۱/۶±۴۹/۳ بود که در طی سال های ۱۳۹۱ تا ۱۳۹۳ به بیمارستان های شهید فقیهی و نمازی شیراز مراجعه نموده و ابتلاء به سرطان آن ها با بررسی های پاتولوژیک تائید شده بود. گروه کنترل شامل ۴۰ نفر با میانگین سنی ۱۲/۹±۵۱/۸ که از نظر سن با گروه بیمار مطابقت داشتند و فاقد هرگونه سابقه سرطان و بیماری های خودایمنی در خود و بستگان درجه اول خود بودند. در این بررسی، تمامی شرایط اخلاقی پزشکی رعایت گردید و از بیماران رضایت نامه کتبی گرفته شده است. حجم نمونه با استفاده از نرم افزار GPower 3.1.9.2 محاسبه گردید. جهت استخراج DNA از بافت پارافینه فریز شده افراد مبتلا به سرطان پستان و با استفاده از کیت استخراج DNA از بافت شرکت پارس سنتر مبادرت به استخراج DNA شد. در مورد افراد کنترل، از بافت افرادی که برای جراحی های زیبایی مراجعه کرده بودند، استفاده گردید. برای بررسی متیلاسیون و یا عدم متیلاسیون ژن E-cadherin، از روش متیلاسیون اختصاصی زنجیره ای پلی مراز استفاده گردید(MSPCR). در این روش ابتدا، ژنوم افراد مورد مطالعه با استفاده از کیت بیوسولفیت ساخت شرکت QIAGEN آلمان با Lot No:142339708 و با توجه به نحوه دستور العمل کیت، آماده سازی گردید. برای بررسی متیلاسیون نواحی پروموتور ژن E-cadherin از پرایمرهای اختصاصی استفاده شد. برای کنترل مثبت و منفی متیلاسیون واکنش های انجام شده از نمونه های کنترل منفی Human HCT116DKO با Lot N: ZRC174904 ساخت شرکت Zymoresearch آمریکا و برای کنترل مثبت آن از نمونه کنترل مثبت Human HCT116DKO با Lot N:ZRC175286 ساخت شرکت Zymoresearch آمریکا، استفاده شد.

واکنش MSPCR: جهت انجام این واکنش، برای هر نمونه نیاز به دو تیوب جداگانه برای بررسی متیلاسیون و یا عدم متیلاسیون ژن های مورد مطالعه برای هر فرد می باشد که محتویات و مقادیر هر تیوپ اپندورف مشابه هم بوده، منتها پرایمرهای اختصاصی آن ها متفاوت بود. پس از پایان واکنش MSPCR، ۷ میکرولیتر از محصول PCR برداشته شده و با ۴ میکرولیتر، loading dye مخلوط گردیده و در ژل آگارز ۲ درصد حاوی ژل رد در بافر TAE با غلظت یک برابر با ولتاژ ۸۰ ولت، الکتروفورز شد. مقادیر مورد استفاده در هر واکنش شامل ۹/۶۵ میکرولیتر آب دیونیزه، ۱/۵ میکرولیتر بافر، ۰/۴ میکرولیتر از $Mgcl_2$ پنجاه میکرو مولار، ۰/۴۵ میکرولیتر از dNTP ده میکرومولار، ۰/۶ میکرولیتر از هر کدام از پرایمرهای رفت و برگشت، یک میکرولیتر آنزیم پلی مراز و یک میکرولیتر از DNA الگو استفاده گردید. دمای هم سرشته شدن برای بررسی متیلاسیون برابر با ۵۰/۳ و جهت بررسی عدم متیلاسیون برابر ۴۹ درجه سانتی گراد و تعداد ۳۳ سیکل تکثیر گردیدند. توالی پرایمرهای استفاده شده جهت بررسی متیلاسون ژن مذکور در جدول شماره ۱ آورده شده است.

واکنش PCR-RFLP: برای تعیین ژنوتیپ ژن اینترلوکین ۱۷ افراد مورد مطالعه از روش RFLP-PCR استفاده شد. قطعات DNA حاوی هر جایگاه با استفاده از پرایمرهای اختصاصی تکثیر شدند جهت موقعیت L-17A G197A(rs2275913) از زوج پرایمر Forward primer: 5-AACAAGTAAGAATGAAAAGAGGACATGGT-3 و Reverse primer: 5-

[Downloaded from sjimu.medilam.ac.ir on 2024-03-29]

[DOI: 10.29252/sjimu.26.4.94]

CCCCCAATGAGGTCATAGAAGAATC-3 و جهت موقعیت IL-17F A7488G (rs763780) از پرایمرهای Forward primer: 5-ACCAAGGCTGCTCTGTTTCT-3 و Reverse primer: 5-GGTAAGGAGTGGCATTTCTA-3 استفاده گردید. برای انجام واکنش PCR برای هر دو موقعیت به هر تیوب ۱۱/۱ میکرولیتر آب، ۱/۷ میکرولیتر بافر PCR با غلظت ۱۰ برابر، ۰/۴ میکرولیتر کلرید منیزیم با غلظت ۲۵ میلی مولار، ۰/۶ میکرولیتر از مخلوط ۱۰ میلی مولار dNTP، ۰/۶ میکرولیتر Forward Primer ۰/۶ میکرولیتر Reverse Primer که پرایمرها با غلظت(۲۰ پیکو مولار) بودند، ۰/۷ میکرولیتر از DNA الگو با غلظت ۰/۳ میکروگرم/میکرولیتر و ۱/۵ میکرولیتر آنزیم Taq پلی مراز با غلظت ۱ واحد بر میکرولیتر افزوده شد. تیوب ها در دستگاه ترموسایکلر قرار گرفته و قطعات مورد نظر با دمای هم سرشته شدن(annealing temperature) برابر ۶۵ درجه سانتی گراد و تعداد ۳۰ سیکل تکثیری، تکثیر گردیدند. سپس محصولات PCR به ترتیب تحت تاثیر آنزیم های محدودکننده XagI و NlaIII و در دمای ۳۷ درجه به مدت ۱۶ ساعت قرار گرفتند. محصولات حاصل از شکست آنزیمی، در ژل آگارز ۲ درصد تحت تاثیر نیروی الکتروفورز از هم جدا شدند(شکل شماره ۱ و ۲).

مطالعه آماری با استفاده از برنامه های آماری SPSS vol.15 و EPI Info vol.2000 و آرلی کویین و با آزمون مجذور کای(x^2) انجام گرفت. برای بررسی این که گروه های مورد مطالعه در جایگاه های مورد بررسی از تعادل هاردی واینبرگ تبعیت می کنند یا خیر از آزمون آماری مربع کای و برنامه آرلی کویین ویرایش ۲۰۰۰ استفاده شد.

یافته های پژوهش

نتایج حاصل از آزمایش MSPCR در مورد ژن E-cadherin و با شرایط ذکر شده در قسمت مواد و روش های آزمایش منجر به تولید محصولی به طول ۱۱۵ جفت باز به عنوان قطعه مورد آزمایش در مورد متیلاسیون پروموتر ژن مذکور و محصولی به طول ۹۷ جفت باز به عنوان قطعه مورد آزمایش در مورد عدم متیلاسیون پروموتر ژن E-cadherina شد. پروموتر ژن E-cadherina افرادی که فقط باند ۱۱۵ جفت بازی را نشان دادند را به عنوان CIHM(CpG Island Hyper Methylation) محسوب شدند که در این افراد تعداد ۳ یا بیشتر از ۳ دی نوکلئوتید CpG پروموترژن آن ها دچار متیلاسیون شده و به عنوان CIHM محسوب می شوند(شکل شماره ۳). نتایج حاصله از تست Chi square با استفاده از نرم افزار Spss برای بررسی ارتباط بین متیلاسیون پروموتر ژن های E-cadherin استخراج شده از بافت بیماران مبتلا به سرطان پستان و گروه کنترل انجام گردید، موید این مطلب بود که میان متیلاسیون پروموتر ژن E-cadherin و بیماری ارتباط معنی داری وجود دارد بدین صورت که متیلاسیون پروموتر ژن مذکور در افراد بیمار، افزایش چشمگیری را نسبت به افراد کنترل نشان می دهد(P=0.001) از طرف دیگر کاهش معنی داری، در هتروزیگوتی پروموتر ژن ذکر شده در بیماران نسبت به گروه کنترل مشاهده می گردد(P=0.02). نتایج حاصله در جدول شماره ۲ آورده شده است. در ادامه تجزیه و تحلیل اطلاعات، به بررسی تاثیر پلی مورفیسم ژن(IL-17A (G197A و IL17 F (A7488G بر متیلاسیون پروموتر ژن E-cadherin استخراج شده از ژنوم بیماران مبتلا به سرطان پستان پرداخته شد. نتایج حاصله نشانگر این مطلب بود که پلی مورفیسم های ذکر شده با متیلاسیون پروموتر E-cadherin در ارتباط نمی باشد(P>0.05)(جدول شماره ۳).

[Downloaded from sjimu.medilam.ac.ir on 2024-03-29]

[DOI: 10.29252/sjimu.26.4.94]

جدول شماره ۱. پرایمرهای اختصاصی جهت واکنش MSPPCR ژن E-cadherin

CDH1 MF	5' TTAGGTTAGAGGGTTATCGCGT 3'
CDH1 MR	5'TAACTAAAAATTCACCTACCGAC3'
CDH1 UMF	5' TAATTTTAGGTTAGAGGGTTATTGT 3'
CDH1 MR	5' CACAACCAATCAACAACACA 3'

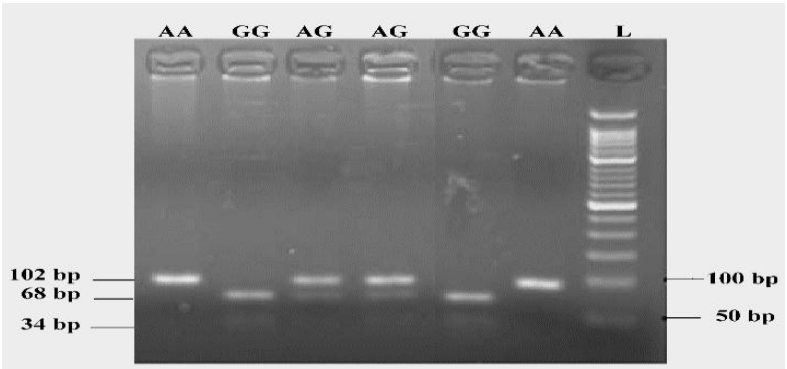
MF: methylation Forward, MR: methylation Reversed,
UMF: Unmethylation Forward, UMR: Unmethylation Reversed

جدول شماره ۲. مقایسه متیلاسیون پروموتر ژن E-cadherin در بیماران و گروه کنترل

P16/ Ink4	افراد مورد مطالعه		Pv
	بیماران	گروه کنترل	
هوموزیگوت متیله	۲۱(۵۲٪/۵)	۷(۱۷٪/۵)	۰/۰۰۱
هوموزیگوت غیر متیله	۱۱(۲۷٪/۵)	۱۵(۳۷٪/۵)	۰/۳
هتروزیگوت متیله/غیر متیله	۸(۲۰٪)	۱۸(۴۵٪)	۰/۰۲
جمع کل	۴۰	۴۰	

جدول شماره ۳. بررسی همراهی پلی مورفیسم ژن های IL17 F A7488G و IL-17A G197A با متیلاسیون پروموتر ژن E-cadherin در بیماران مبتلا به سرطان پستان

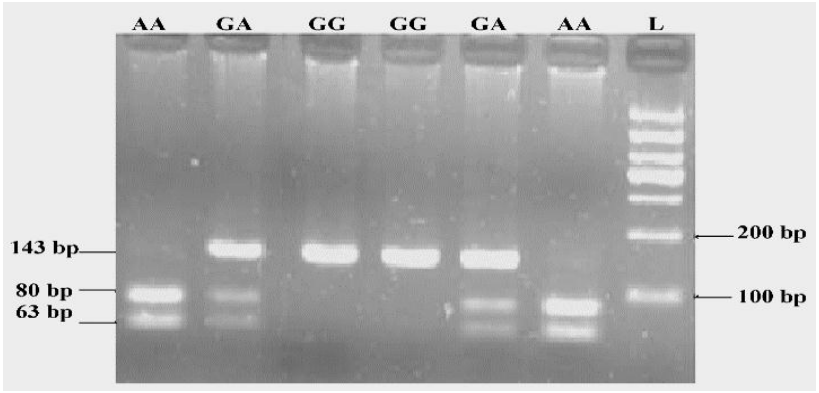
IL-17F	E- cadherin				Pv
	هوموزیگوت متیله	هوموزیگوت غیر متیله	هتروزیگوت متیله/غیر متیله	جمع کل	
AA	۱۵	۲	۴	۲۱	
AG	۱۰	۳	۲	۱۵	
GG	۳	۰	۱	۴	۰/۷۹
Total	۲۸	۵	۷	۴۰	
IL-17A					
GG	۷	۱۰	۱۱	۲۸	
GA	۳	۳	۶	۱۲	۰/۵۴
Total	۱۰	۱۳	۱۷	۴۰	



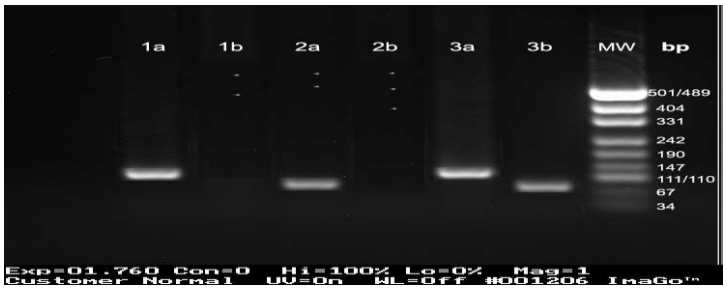
شکل شماره ۱. قطعات حاصل از هضم آنزیمی محصول PCR پلی مورفیسم rs2275913 از ژن IL-17A ژنوتیپ AA (قطعه ۱۰۲ جفت بازی)، ژنوتیپ GG (قطعات ٦٧ و ٣٤ جفت بازی) و ژنوتیپ AG (قطعات ۱۰۲، ٦٨ و ٣٤ جفت بازی)

[Downloaded from sjimu.medilam.ac.ir on 2024-03-29]

[DOI: 10.29252/sjimu.26.4.94]



شکل شماره ۲. قطعات حاصل از هضم آنزیمی محصول PCR پلی مورفیسم rs763780 از ژن IL-17F ژنوتیپ AA (قطعات ٦٣ و ٨٠ جفت بازی)، ژنوتیپ GG (قطعه١٤٢جفت بازی) و ژنوتیپ GA (قطعات ١٤٣، ٨٠ و ٦٣ جفت بازی)



شکل شماره ۳. قطعات حاصل از MSPCR ژن E-cadherin

1a و 1b: هوموزیگوت متیلاسیون. 2a و 2b: هوموزیگوت عدم متیلاسیون. 3a و 3b: هتروزیگوت متیلاسیون و عدم متیلاسیون

بحث و نتیجه گیری

امروزه مکانیسم های اپی ژنتیکی به عنوان یک فاکتور مشخص در توسعه سرطان پستان شناخته می شوند. متیلاسیون DNA یکی از سه لایه اپی ژنتیکی کنترل بیان ژن های دخیل در سلول های زاینده و هم چنین ژن های اختصاصی بافت می باشد. نشان داده شده است که افزایش متیلاسیون در جزایر CpG یا (CpG island hyper methylation ،CIHM)، یکی از مکانیسم های مهم در خاموش شدن ژن می باشد. در بسیاری از سرطان ها، ژن های مختلفی دچار این CIHM می گردند(۱۵). مطالعات نشاندهنده این موضوع می باشد که در سرطان های زیادی از جمله سرطان پستان و معده، ژنوم فاکتورهای تنظیمی CDH1,DAP-Kinase، p16/INK4a و p14/ARF با افزایش متیلاسیون همراه بوده است که این فاکتورها در تنظیم منفی سیکل سلولی از طریق تاثیر بر مسیر فاکتورهای رتینوبلاستوما و فاکتور P53 به ترتیب دخالت دارند(۱۶). مولکول(E-Cadherin CDH1) یک مولکول چسبنده می باشد که در متاستاز و تهاجم تومور نقش دارد. ژن این مولکول دارای ۱۶ اگزون بوده و اندازه آن حدود ۱۰۰ کیلو باز می باشد. در این تحقیق به بررسی متیلاسیون پروموتر ژن E-cadherin در سرطان پستان پرداخته شد. نتایج حاکی از تاثیر افزایش میزان متیلاسیون در فرم هوموزیگوت و هتروزیگوتی ژن مورد نظر بر مستعد شدن افراد به سرطان پستان می باشد. با توجه به این که متیلاسیون ژن ها می تواند به عنوان یک فاکتور در کاهش بیان ژن، عمل نماید، به نظر می رسد که این تغییر اپی ژنتیکی نقش موثری در ابتلا به سرطان پستان داشته باشد. دیگر نتایج منتشر شده توسط

[Downloaded from sjimu.medilam.ac.ir on 2024-03-29]

[DOI: 10.29252/sjimu.26.4.94]

محققین نیز حاکی از تاثیر متیلاسیون بر بیان ژن مذکور در سرطان ها می باشد. در تحقیق انجام شده توسط زی لی لیو و همکاران در یک مطالعه متا آنالیزی به ارتباط متیلاسیون ژن مورد بحث و سرطان ریه اشاره نموده اند(۱۷). لیو جی و همکاران به این نتیجه رسیدند که متیلاسیون ژن E-cadhein، ممکن است با سرطان زائی در سرطان همراه بوده و منجر به یک پیش آگهی ضعیف گردد(۱۸). ژانگ و همکاران به مطالعه تاثیر متیلاسیون ژن مورد تحقیق و سرطان پروستات پرداخته که نتایج حاکی از این بوده که متیلاسیون ژن E-cadherin می توان به عنوان یک مارکر بیولوژی در تشخیص سرطان پروستات مورد استفاده قرار گیرد(۱۹). در مطالعه انجام شده توسط شارق و همکاران در سال ۲۰۱۴، به این نتیجه رسیدند که میزان غیر طبیعی متیلاسیون ژن E-cadherin، می تواند در فرآیند سرطان زائی کارسینوما مجاری غدد شیری پستان دخالت داشته باشد(۲۰). در مطالعه دیگری، زینگ لی یو و همکاران، به تاثیر متیلاسیون ژن مذکور و استعداد افراد به سرطان دستگاه گوارش پرداخته شد و پیشنهاد گردید که از متیلاسیون ژن مذکور می توان در تشخیص زود هنگام، پیش آگهی و درمان استفاده نمود(۲۱). تعداد زیاد جزایر CpG که در ناحیه ۵` نزدیک به پروموتر ژن E-Cadherin قرار گرفته اند(۲۲)، نشان از یک متیلاسیون غیر طبیعی در حداقل ۸ نوع سرطان کارسینوما مختلف می دهد. این افزایش متیلاسیون همراه با کاهش بیان پروتئین E-Cadherin در سرطان ها است(۲۳). در رده های سلول های سرطانی، متیلاسیون پروموتر ژن E-Cadherin، دینامیک، هتروژن، ناپایدار و با متغییرهای آللی همراه می باشد که این عملکرد با از دست دادن هتروژنسیتی هماهنگ بوده و ممکن است تحت تاثیر ریز محیط های توموری باشد. متیلاسیون جزایر CpG در ژن E-Cadherin به طور قابل ملاحظه ای در خلال پیشرفت سرطان پستان و هپاتوسلولار افزایش می یابد(۲۴،۲۵). با استفاده از اثر 5AzaC–۵)aza-2`-deoxycytidine) بر روی رده های سلول های سرطانی مشخص شده است که اتصال MeCP2 و MBP2 (که هر دو جزء پروتئین های متصل شونده به CpG های متیله می باشند) به جزایر CpG متیل شده در پروموتر ژن E-Cadherin منجر به فراخوانی آنزیم های هیستون داستیلاز به نواحی پروموتری می شود و این فراخوانی منجر به داستیله شدن هیستون H3 می گردد که این عمل خود برای سرکوب کردن متیلاسیون ژن E-Cadherin لازم وضروری است(۲۶). جالب توجه این است که به نظر می رسد که متیلاسیون پروموتر ژن E-Cadherin در رده های سلولی سرطان پستان، خود قسمتی از برنامه نسخه برداری عمومی می باشد که توسطEMT اتفاق می افتد و باعث تهاجم می گردد(۲۷). در مطالعه ای که توسط آاو چان و همکاران درسال ۲۰۰۳ انجام گرفت، ارتباط بین متیلاسیون E-cadherin و سرطان معده، نشان داده شد. هم چنین ارتباط بین عفونت با هلیکوباکتر پیلوری و تاثیر این عفونت بر روی متیلاسیون فاکتور ذکر شده، مورد بررسی قرار گرفت که نتایج حاکی از ارتباط این عفونت با القاء متیلاسیون فاکتور مورد نظر می باشد(۲۸). تااو و همکاران در سال ۲۰۱۱ به بررسی ارتباط توده بدنی با متیلاسیون ژن های p16, E-cadherin در سرطان پستان پرداخته و با توجه به نتایج به دست آمده، استنباط نمودند که توده بدنی و میزان بافت چربی می تواند در متیلاسیون ژن های مذکور در سنین یائسگی دخیل باشد(۲۹). در تحقیق متا آنالیزی که توسط وانگ و همکاران انجام شد، محققین به این نتیجه رسیدند که متیلاسیون پروموتر ژن E-cadherin با سرطان تخمدان در ارتباط می باشد(۳۰).

References

1.Asgarian F, Mirzaei M, Asgarian S, Jazayeri M. Epidemiology of breast cancer and the age distribution of patients over a period of ten years. IJBD 2016;9:31-6.

2.Alizadehotaghvar H, Hosseini M, Tizmaghz A, Shabestanipour G, Noori H. A review on metastatic breast cancer in Iran. Asian Pac J Trop Biomed 2015;5:429-33. doi: [10.1016/S2221-1691(13)60075-1].

[Downloaded from sjimu.medilam.ac.ir on 2024-03-29]

[DOI: 10.29252/sjimu.26.4.94]

3.D. TP. Emery`s elements of medical genetics. 2007:322-3.

4.Olopade OI. The human genome project and breast cancer. Womens Health Issu1997;7:209-14.

5.Ting AH, Mcgarvey KM, Baylin SB. The cancer epigenome components and functional correlates. Genes Deve2006;20:3215-31. doi:10.1101/gad.1464906

6.Jones PA, Baylin SB. The epigenomics of cancer. Cell 2007;128:683-92. doi: 10.1016/j.cell.2007.01.029

7.Vanroy F, Berx G. The cell adhesion molecule E-cadherin. Cellular and molecular life sciences CMLS 2008;65:3756-88. doi: 10.1007/s00018-008-8281-1.

8.Hulpiau P, Vanroy F. Molecular evolution of the cadherin superfamily. Int J Biochem Cellbiol2009;41:349-69. doi:10.1016/j.biocel.2008.09.027

9.Strumane K, Berx G, Vanroy F. Cadherins in cancer. Handbook Exp Pharmacol2004;165:69-103. doi: 10.1007/978-3-540-68170-0_4

10.Kleer CG, van Golen KL, Braun T, Merajver SD. Persistent E-cadherin expression in inflammatory breast cancer. Modern Pathol Offi J United States Canadian Acad Inc2001;14: 458-4. doi: 10.1038/modpathol.3880334

11.Perl AK, Wilgenbus P, Dahl U, Semb H, Christofori G. A causal role for E-cadherin in the transition from adenoma to carcinoma. Nature 1998;392:190-3. doi:10.1038/32433

12.Cletonjansen AM, Callen DF, Seshadri R, Goldup S, Mccallum B, Crawford J, et al. Loss of heterozygosity mapping at chromosome arm 16q in 712 breast tumors reveals factors that influence delineation of candidate regions. Cancer Res2001 Feb 1;61:1171-7.

13.Berx G, Cletonjansen AM, Strumane K, Leeuw WJ, Nollet F, Vanroy F, et al. E-cadherin is inactivated in a majority of invasive human lobular breast cancers by truncation mutations throughout its extracellular domain. Oncogene 1996;13:1919-25.

14.Hermann R, Doerfler W. Interference with protein binding at AP2 sites by sequence-specific methylation in the late E2A promoter of adenovirus type 2 DNA. FEBS lett 1991;281:191-5. .

15.Issa JP, Ottaviano YL, Celano P, Hamilton SR, Davidson NE, Baylin SB. Methylation of the oestrogen receptor CpG island links ageing and neoplasia in human colon .Nature genetics. 1994;7:536-40. doi:10.1038/ng0894-536

16.Rizos H, Darmanian AP, Mann GJ, Kefford RF. Two arginine rich domains in the p14ARF tumour suppressor mediate nucleolar localization. Oncogene 2000;19:2978-85. doi:10.1038/sj.onc.1203629

17.Liu ZL, Wang Q, Huang LN. E-cadherin gene methylation in lung cancer. Tum Biol2014;35:9027-33. doi:10.1007/s13277-014-2076-9

18.Liu J, Sun X, Qin S, Wang H, Du N, Li Y, et al. CDH1 promoter methylation correlates with decreased gene expression and poor prognosis in patients with breast cancer. Oncol Lett 2016;11:2635-43. doi:10.3892/ol.2016.4274

19.Zhang SQ, Zhang GQ, Zhang L. Correlation between methylation of the E-Cadherin gene andmalignancyofprostatecancer.Genet Mol Res2016;15:231-6. doi: 10.4238/gmr.15028046

20.Shargh SA, Sakizli M, Khalaj V, Movafagh A, Yazdi H, Hagigatjou E, Sayad A, et al. Downregulation of E-cadherin expression in breast cancer by promoter hypermethylation and its relation with progression and prognosis of tumor. Med Oncol2014;31:250.doi: 10.1007/s12032-014-0250-y

21.Liu X, Chu KAO. E-cadherin and gastric cancer cause, consequence and applications. Biomed Res Int2014;2014:637308. doi: 10.1155/2014/637308

22.Berx G, Becker KF, Hofler H, Vanroy F. Mutations of the human E-cadherin CDH1 gene. Humanmutation1998;12:226-37. doi:10.1002/(SICI)1098-1004(1998)12:4.

23.Kanazawa N, Oda T, Gunji N, Nozue M, Kawamoto T, Todoroki T, et al. E-cadherin expression in the primary tumors and metastatic lymph nodes of poorly differentiated types of rectal cancer. Surg Today 2002;32:123-8.

24.Graff JR, Gabrielson E, Fujii H, Baylin SB, Herman JG. Methylation patterns of the

[Downloaded from sjimu.medilam.ac.ir on 2024-03-29]

[DOI: 10.29252/sjimu.26.4.94]

E-cadherin 5' CpG island are unstable and reflect the dynamic, heterogeneous loss of E-cadherin expression during metastatic progression J Biol Chem2000;275:2727-32.
25.Graff JR, Herman JG, Lapidus RG, Chopra H, Xu R, Jarrard DF, et al. E-cadherin expression is silenced by DNA hypermethylation in human breast and prostate carcinomas. Cancer Res1995;55:5195-9.
26.Koizume S, Tachibana K, Sekiya T, Hirohashi S, Shiraishi M. Heterogeneity in the modification and involvement of chromatin components of the CpG island of the silenced human CDH1 gene in cancer cells. Nucleic acids Res 2002;30:4770-80.
27.Lombaerts M, Wezel T, Philippo K, Dierssen JW, Zimmerman RM, Oosting J, et al. E-cadherin transcriptional downregulation by promoter methylation but not mutation is related to epithelial to mesenchymal transition in breast cancer cell lines. British J Cancer2006;94:661-71. doi: 10.1038/sj.bjc.6602996
28.Chan AO, Lam SK, Wong BC, Wong WM, Yuen MF, Yeung YH, et al. Promoter methylation of E-cadherin gene in gastric mucosa associated with Helicobacter pylori infection and in gastric cancer. Gut2003 Apr;52:502-6.
29.Tao MH, Marian C, Nie J, Ambrosone C, Krishnan SS, Edge SB, et al. Body mass and DNA promoter methylation in breast tumors in the Western Newyork exposures and breast cancer study. Am J Clin2011;94:831-8.
doi:10.3945/ajcn.110.009365
30.Wang Q, Wang B, Zhang YM, Wang W. The association between CDH1 promoter methylation and patients with ovarian cancer a systematic meta-analysis. J Ova Res 2016; 9:23. doi:10.1186/s13048-016-0231-1

[Downloaded from sjimu.medilam.ac.ir on 2024-03-29]

[DOI: 10.29252/sjimu.26.4.94]

Investigation of Methylation in E-cadherin Gene Promoter Regions and Interleukin-17 Gene Polymorphism in Breast Cancer Patients

Naeimi S[1]*

(Received: May 2, 2017 Accepted: May 27, 2017)

Abstract

Introduction: The E-cadherin gene is associated with poor prognosis and metastasis in patients with breast cancer, and methylation of its promoter is correlated with decreased gene expression. In this study, we aimed to evaluate the potential role of E-cadherin promoter methylation in breast cancer.

Materials & Methods: In this case-control study, 40 breast cancer patients and 40 healthy women were examined. DNA was extracted, and for gene promoter methylation and IL-17 gene polymorphism, MSPCR and PCR-RFLP methods were used, respectively. Data were compared in both groups by using Pearson's correlation coefficient, Chi-square test, and Hardy-Weinberg equilibrium test.

Finding: We found a relationship between E-cadherin gene promoter methylation and breast cancer, such that the promoter of E-cadherin gene was significantly more methylated in patients compared to normal individuals ($P<0.05$).

Discussion & Conclusions: It seems that increased E-cadherin gene promoter methylation in patients is associated with the risk of breast cancer.

Keywords: Methylation, E-cadherin, Breast Cancer, Polymorphism, IL-17

1. Dept of Genetics, Faculty of Basic Sciences, Kazerun Branch, Islamic Azad University, Kazerun, Iran
**Corresponding author Email: naeimis@kau.ac.ir*

[Downloaded from sjimu.medilam.ac.ir on 2024-03-29]

[DOI: 10.29252/sjimu.26.4.94]