مجله دانشکده پزشکی اصفهان **مقاله پژوهشی**
سال بیست و نهم/شماره ۱۶۵/هفته اول بهمن ماه ۱۳۹۰
تاریخ دریافت: ۹۰/۶/۱۲۰ **تاریخ پذیرش:** ۹۰/۸/۲۵

فراوانی موتاسیون اگزون شماره‌ی دو ژن مهار کننده‌ی تومور KLF6 در نمونه‌های سرطانی پروستات

دکتر مهدی نیکبخت دستجردی[۱]، جواد رمضانی[۲]

چکیده

مقدمه: با توجه به اهمیت سرطان پروستات و گستردگی مطالعاتی که تاکنون بر روی عوامل خطر محیطی و ژنتیکی آن انجام گرفته است، هنوز ابعاد زیادی از جنبه‌های ژنتیکی آن ناشناخته است. یکی از ژن‌های مهارکننده‌ی تومور در این نوع سرطان ژن KLF6 می‌باشد که در سرطان پروستات دچار تغییرات ژنتیکی می‌شود. یکی از تغییرات ژنتیکی شایع در این ژن موتاسیون اگزون شماره‌ی ۲ است که با پیش‌آگهی بیماری مرتبط می‌باشد. از آن جا که در مطالعات محدودی موتاسیون در ژن KLF6 بررسی شده است و وجود موتاسیون با عوامل محیطی و نیز شرایط جغرافیایی و نژادی مرتبط است، هدف این مطالعه، بررسی موتاسیون اگزون شماره‌ی ۲ این ژن در افراد مبتلا به این سرطان در شهر اصفهان بود.

روش‌ها: این مطالعه در سال ۹۰-۱۳۸۸ در شهر اصفهان، بر روی ۴۰ نمونه‌ی سرطان پروستات که از طریق پروستاتکتومی یا بیوپسی در افراد مبتلا به این بیماری به دست آمد انجام شد. برای تعیین موتاسیون اگزون شماره‌ی ۲ ژن KLF6 استخراج DNA، تعیین کمیت و کیفیت DNA، تکثیر اگزون شماره‌ی ۲ با انجام PCR (Polymerase chain reaction) و پلی‌اکریلامید ژل الکتروفورز انجام گرفت و اطلاعات جمع‌آوری شده تجزیه و تحلیل شد.

یافته‌ها: ۳۲ نفر (۸۰ درصد) از بیماران بالای ۶۰ سال سن داشتند. ۷ مورد (۱۷/۵ درصد) از افراد مبتلا به سرطان پروستات، موتاسیون در اگزون شماره‌ی ۲ ژن KLF6 داشتند. بین وجود موتاسیون در اگزون شماره‌ی ۲ ژن KLF6 و سن افراد مبتلا به سرطان پروستات رابطه‌ی معنی‌داری وجود نداشت، در حالی که رابطه‌ی بین وجود موتاسیون در اگزون شماره‌ی ۲ ژن KLF6 و درجه بندی تومور معنی‌دار بود.

نتیجه‌گیری: فراوانی موتاسیون در اگزون شماره‌ی ۲ ژن KLF6 در نمونه‌های سرطانی با درجه بندی بالاتر، بیشتر بود که می‌تواند نشانه‌ی پیش‌آگهی ضعیف در نمونه‌هایی باشد که اگزون شماره‌ی ۲ ژن KLF6 در آن‌ها دچار موتاسیون شده است.

واژگان کلیدی: سرطان پروستات، موتاسیون، ژن KLF6، ژن سرکوب کننده‌ی تومور.

مقدمه

سرطان پروستات دومین سرطان معمول در میان مردان در جهان است. در مطالعه‌ای که طی ۵ سال و در ۵ استان صورت گرفت، ایران با شیوع ۵/۱ در هر ۱۰۰۰۰۰ نفر در سال در ردیف کشورهای با کمترین شیوع سرطان پروستات قرار دارد که طبق نظر محقق این نسبت کم را می‌توان ناشی از نبود برنامه‌های گسترده ی غربال‌گری و نوپا بودن ساختار و کیفیت سیستم‌های ثبت و شناسایی موارد سرطان در ایران دانست. میانگین سن ابتلا در ایران ۱۳/۵ ± ۶۷ سال است که مشابه با دیگر نقاط جهان می‌باشد (۱).

در سال ۲۰۰۸ میلادی طبق آمار انجمن سرطان آمریکا ۱۸۶۳۳۰ مورد جدید سرطان پروستات در این کشور شناسایی شد و ۲۶۰۰۰ نفر به همین علت فوت کردند (۲). در کشورهای توسعه یافته‌ی جهان، سرطان پروستات دومین سرطان رایج پس از سرطان پوست و

---

* **این مقاله حاصل پایان‌نامه‌ی دوره‌ی دکترای حرفه‌ای به شماره‌ی ۳۹۰۱۶۰ در دانشگاه علوم پزشکی اصفهان است.**

[۱] دانشیار، گروه علوم تشریحی، دانشکده‌ی پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران
[۲] دانشجوی پزشکی، کمیته‌ی تحقیقات دانشجویی، دانشکده‌ی پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران
نویسنده‌ی مسؤول: دکتر مهدی نیکبخت دستجردی
Email: nikbakht@med.mui.ac.ir

دومین سرطان مرگ‌آور پس از سرطان ریه در مردان محسوب می‌شود؛ به طوری که از هر ۶ نمرد، یک نفر به آن مبتلا می‌گردد (۳).

بیشترین فراوانی سرطان پروستات در آفریقا و کمترین آن در جمعیت‌های آسیایی دیده می‌شود (۳). مطالعات اپیدمیولوژیک نشان داده است که عامل وراثتی در بروز این بیماری در ۱۰ درصد موارد نقش دارد؛ به طوری که مردان با سابقه‌ی فامیلی سرطان پروستات هم خطر بیشتری نسبت به جمعیت عمومی برای ابتلا به این سرطان را دارند و هم ۷-۶ سال زودتر مبتلا می‌شوند (۴-۳).

اولین ژنی که در ارتباط با سرطان پروستات شناخته شد، ژن HPC1 (Hereditary prostate cancer) بود. پس از این کشف، چندین ژن نامزد دیگر هم شناخته شدند. همچنین اختلال در ژن‌های CYP17، SRDSA2 و HSD3B1 که در متابولیسم آندروژن سهم دارند نیز نقش مهمی در بروز پیشرفت سرطان پروستات دارد (۴-۳).

شماری از ژن‌ها که در پروستات بیان می‌شوند و در ارتباط با تولید مایع منی هستند، با سرطان پروستات در ارتباط هستند. کالکرین ۲ (KLK2) و PSA نقش اساسی در بروز این سرطان دارند. ژن TMPRSS2 نیز در بافت اپی‌تلیوم پروستات نئوپلاستیک افزایش بیان دارد (۶-۵). همچنین بیان ژن‌های سرکوب کننده‌ی تومور مانند PSP94، NKX3-1 در سلول های توموری پروستات کاهش یافته است (۹-۷). در مطالعات اخیر اثبات شده است که ژن PTEN که بر روی کروموزوم ۱۰ واقع شده است در یک سوم سرطان‌های پروستات جهش یافته است (۸). غیر فعال شدن ژن‌های سرکوب کننده‌ی تومور دیگری مانند TP53، RB1 و CDKN2A در مراحل اولیه‌ی سرطان به ندرت یافت می‌شوند و اغلب در مراحل پیشرفته‌ی تومور و متاستاز آن یافت می‌شوند (۱۰-۹).

فاکتور نسخه برداری شبه کراپل (KLF6) ژنی است که وظیفه‌ی آن سرکوب کردن تومور است. وقوع موتاسیون در این ژن، در ایجاد برخی از انواع تومورها نقش دارد؛ به طوری که ارتباط موتاسیون در این ژن با سرطان‌هایی مانند کولورکتال (۱۱)، گلیومای بدخیم (۱۲)، کارسینوم نازوفارنکس (۱۳)، سرطان پستان (۱۴) و سرطان معده (۱۵) در مطالعات قبلی نشان داده شده است. در برخی از مطالعات نیز ارتباط آن با سرطان پروستات بررسی شده است (۱۷-۱۶).

KLF6 با شماره‌ی بانک ژنی (AF001461) نام‌های دیگری همچون ZF9 و CPBP دارد (۲۰-۱۸). از جمله اهداف شناخته شده‌ی ترجمه‌ای این ژن می‌توان به گلیکوپروتیین جفتی (۱۹)، کلاژن آلفا ۱ (۱۸)، فاکتور رشد بتا ۱ (۲۱)، گیرنده‌های فاکتور رشد بتا ۱ نوع ۱ و ۲ (۲۱) و فعال کننده‌ی پلاسمینوژن نوع اوروکیناز (۲۲) اشاره کرد. هر یک از این اهداف نقشی در تمایز و رشد سلولی دارند (۲۲-۱۸). این ژن از ۵ اگزون تشکیل شده است که اگزون شماره‌ی ۲ ارتباط قوی‌تری با این سرطان دارد (۱۷).

با توجه به اهمیت این سرطان و گستردگی مطالعاتی که تاکنون بر روی عوامل خطر محیطی و ژنتیکی آن انجام گرفته است، هنوز ابعاد زیادی از جنبه‌های ژنتیکی آن ناشناخته است و از آن جا که در مطالعات محدودی موتاسیون در ژن KLF6 بررسی شده است و وجود موتاسیون با عوامل محیطی و نیز شرایط جغرافیایی و نژادی مرتبط است، هدف از انجام این مطالعه، بررسی

www.mui.ac.ir

فراوانی موتاسیون اگزون شماره‌ی ۲ این ژن در افراد مبتلا به سرطان در شهر اصفهان بود.

روش‌ها

مطالعه بر روی ۴۰ نمونه‌ی سرطان پروستات که در بیمارستان الزهرای (س) اصفهان از طریق پروستاتکتومی یا بیوپسی طی سال‌های ۱۳۸۸ تا ۱۳۹۰ در افراد مبتلا به این بیماری به دست آمد و وجود سرطان در آن‌ها توسط مطالعات میکروسکوپیک پاتولوژیست به اثبات رسیده است، انجام شد.

برای تعیین موتاسیون اگزون شماره‌ی ۲ ژن KLF6 به ترتیب مراحل ذیل بر روی نمونه‌ها انجام گرفت:

۱) استخراج DNA: سه یا پنج قطعه از برش‌های بافتی به ضخامت ۵-۴ میکرومتر در میکروتیوپ ۱/۵ میلی‌لیتری جمع‌آوری شد و با اضافه نمودن گزیلن سانتریفوز انجام گردید. سپس گزیلن دور ریخته شد. در مرحله‌ی بعد با اضافه نمودن اتانول سانتریفوز انجام شد و در نهایت با استفاده از روش استاندارد استخراج DNA انجام گرفت.

۲) تعیین کمیت و کیفیت DNA: میزان DNA استخراج شده توسط اسپکتروفتومتر و کیفیت آن با استفاده از آگاروز ژل الکتروفورز انجام گرفت.

۳) انجام PCR (Polymerase chain reaction): با استفاده از پرایمر های اختصاصی جهت تکثیر اگزون شماره‌ی ۲: PCR با استفاده از ۳۰۰-۱۰۰ نانوگرم DNA، ۱ واحد تک پلیمراز، ۱/۵ میلی‌مول $Mgcl_2$ و ۲۰۰ میکرومول از هر یک از dATP، dCTP، dTTP، dGTP و ۲ میکروگرم از زوج پرایمر اختصاصی برای تکثیر اگزون شماره‌ی ۲ ژن انجام گرفت (۱۷).

توالی پرایمرهای اختصاصی عبارت بودند از: F: 5-GTTTACCTCCGACCCCATTGGC-3 و R: 5-TCCAGGG CTGGTGCAATGCA-3.

۴) پلی‌اکریلامید ژل الکتروفورز: تعیین موتاسیون اگزون شماره‌ی ۲ ژن KLF6 به وسیله‌ی روش PCR-SSCP و پلی‌اکریلآمید ژل الکتروفورز مشخص گردید. محصول تک رشته‌ای PCR با استفاده از ژل آکریلامید Nondenaturing در ولتاژ ۷۰ به مدت ۳-۲/۵ ساعت Run شد. پس از آن رنگ‌آمیزی نقره انجام گرفت و باندها مشاهده گردید.

اطلاعات به دست آمده از طریق نرم‌افزار SPSS (SPSS Inc., Chicago, IL)، مورد تجزیه و تحلیل آماری قرار گرفت. مقدار P کوچک‌تر از ۰/۰۵ معنی‌دار تلقی شد.

یافته‌ها

در این مطالعه از ۴۰ نمونه سرطان پروستات که از آرشیو بخش پاتولوژی بیمارستان الزهرای (س) اصفهان جمع‌آوری شده بود، استفاده گردید. ویژگی‌های دموگرافیک نمونه‌ها شامل سن، نوع تومور، درجه و مرحله بندی نمونه‌ها در جدول ۱ ارائه شده است.

DNA نمونه‌های استخراج شده توسط اسپکترفتومتر و آگاروز ژل الکتروفورز مورد بررسی قرار گرفت. تمامی نمونه‌ها از کمیت و کیفیت مطلوب جهت انجام PCR برخوردار بود.

جهت مشخص نمودن موتاسیون اگزون شماره‌ی ۲، PCRدر تمامی نمونه‌ها با استفاده از پرایمرهای اختصاصی با موفقیت انجام گرفت. جهت مشخص نمودن باندهای تشکیل شده، بخشی از محصول PCR پس از طی مراحل تک رشته‌ای شدن، به ژل پلی‌اکریلامید منتقل شد و تحت تأثیر الکتروفورز قرار گرفت و در نهایت باندهای تشکیل شده با رنگ‌آمیزی نیترات نقره مشخص گردید. مطالعه‌ی ما نشان داد که

www.mui.ac.ir

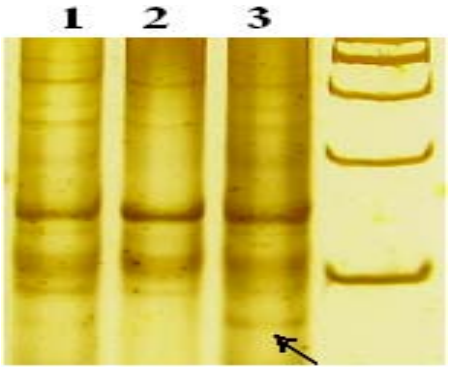
جدول ۱. سن ونوع تومورها در نمونه‌های مورد مطالعه

متغیر		تعداد
سن	≤۶۰	۳۲
	>۶۰	۸
	نوع تومور	
	آدنوکارسینوما	۳۷
	اسکواموس سل کارسینوما	۲
	ترانزیشنال سل کارسینوما	۱
درجه‌ی تومور (Gleason score)	۵	۱۰
	۶	۱۱
	۷	۱۲
	۸	۴
	۹	۳
مرحله‌ی تومور	۱	۲
	۲	۲۵
	۳	۶
	۴	۷

استفاده از ژل با ترکیب آکریلامید ۱۵ درصد دارای نتایج مطلوب برای جداسازی محصولات PCR تک رشته‌ای می‌باشد. PCR-SSCP با رنگ‌آمیزی نقره در نمونه‌های توموری، دو باند واضح و جدا از هم برای اگزون ۲ نشان داد. باندهای بزرگ‌تر با مهاجرت آهسته‌تر، که ارائه دهنده‌ی محصول غیر اختصاصی PCR بودند و باندهای کوچک‌تر با مهاجرت سریع‌تر که باند اختصاصی اگزون ۲ بودند. تومورهای دارای موتاسیون علاوه بر این باندها، باندهای اضافی نشان دادند. در نمونه های موتاسیون مثبت یک باند اضافی نابه‌جا با اندازه‌ی کوچک‌تر قابل تشخیص بود (شکل ۱).

از بین ۴۰ نمونه‌ی مورد بررسی، در ۷ مورد (۱۷/۵ درصد) از نمونه‌ها، موتاسیون در اگزون شماره‌ی ۲ ژن KLF6 مشاهده شد و ۳۳ مورد (۸۲/۵ درصد) باقی مانده فاقد موتاسیون در این ژن بودند. بیماران بالای ۶۰ سال با فراوانی ۳۲ نفر (۸۰ درصد) بیشترین فراوانی و بیماران زیر ۶۰ سال با فراوانی ۸ نفر(۲۰ درصد) کمترین تعداد را داشتند.

فراوانی وجود موتاسیون در اگزون شماره‌ی ۲ ژن KLF6 بر اساس دو گروه سنی کمتر از ۶۰ سال و بیشتر از ۶۰ سال در جدول ۲ نشان داده شده است.



شکل ۱. PCR-SSCP با رنگ‌آمیزی نقره مربوط به اگزون ۲ در نمونه‌های سرطانی پروستات. نمونه‌ی سرطانی شماره‌ی ۳ دارای یک باند نابه جا می‌باشد (علامت پیکان) که نشانه‌ی وجود موتاسیون در این نمونه است.

جدول ۲. فراوانی وجود موتاسیون به تفکیک دو گروه سنی در نمونه‌های مورد مطالعه

وجود موتاسیون KLF6	سن بیمار ≤۶۰ (درصد)	سن بیمار >۶۰ (درصد)	مقدار P
مثبت	۱ (۱۲/۵)	۶ (۱۸/۷۵)	
منفی	۷ (۸۷/۵)	۲۶ (۸۱/۲۵)	۱
جمع کل	۸ (۱۰۰)	۳۲ (۱۰۰)	

طبق بررسی‌های میکروسکوپی پاتولوژیک درجه بندی نمونه های سرطانی بر اساس معیار گلایسون انجام شد. تومور درجه‌ی ۵ در ۱۰ نمونه (۲۵ درصد)، درجه‌ی ۶ در ۱۱ نمونه (۲۷/۵ درصد)، درجه‌ی ۷ در ۱۲ نمونه (۳۰ درصد)، درجه‌ی ۸ در ۴ نمونه (۱۰ درصد) و درجه‌ی ۹ در ۳ نمونه (۷/۵ درصد) دیده شد

www.mui.ac.ir

و بیشترین فراوانی مربوط به تومور درجه‌ی ۷ بود. فراوانی موتاسیون در اگزون شماره‌ی ۲ ژن KLF6 در دو گروه تومور با درجه‌ی ۶ یا کمتر و تومور با درجه‌ی ۷ یا بیشتر در جدول ۳ نشان داده شده است.

جدول ۳. فرا.انی وجود موتاسیون در اگزون شماره‌ی ۲ ژن KLF6 به تفکیک درجه‌بندی تومور

وجود موتاسیون KLF6	درجه بندی تومور		مقدار P
	≤۶ (درصد) تعداد	≥۷ (درصد) تعداد	
مثبت	۱ (۴/۷)	۶ (۳۱/۵)	۰/۰۴ >
منفی	۲۰ (۹۵/۳)	۱۳ (۶۸/۵)	
جمع کل	۲۱ (۱۰۰)	۱۹ (۱۰۰)	

بحث

از آن جایی که سرطان پروستات از جمله شایع‌ترین سرطان‌ها و از علل اصلی مرگ و میر مردان به علت سرطان است، لازم است جنبه‌های مختلف آن مانند عوامل خطر ایجاد کننده‌ی محیطی و ژنتیکی شناسایی شود تا در مطالعات بعدی و نیز آینده بتوان با استناد به آن‌ها افراد در معرض خطر را شناسایی و بیماری را در مراحل اولیه تشخصی داد و درمان نمود.

یکی از ژن‌های مهارکننده‌ی درگیر در این نوع سرطان ژن KLF6 می‌باشد. مطالعات قبلی نشان داده است که در سرطان پروستات این ژن دچار تغییرات ژنتیکی می‌شود (۱۷-۱۶). در این مطالعه از طریق PCR-SSCP و ژل الکترفورز فراوانی موتاسیون اگزون شماره‌ی ۲ این ژن را در نمونه‌های سرطانی جمع‌آوری شده بررسی کردیم. بر طبق نتایج به دست آمده ۷ مورد (۱۷/۵ درصد) از افراد مبتلا به سرطان پروستات، موتاسیون در اگزون شماره‌ی ۲ ژن KLF6 داشتند. همچنین مطالعه‌ی ما نشان داد که فراوانی موتاسیون در اگزون شماره‌ی ۲ ژن KLF6 در نمونه‌های سرطانی با درجه‌بندی بالاتر، بیشتر بود که می‌تواند نشانه‌ی پیش‌آگهی ضعیف در نمونه‌هایی باشد که اگزون شماره‌ی ۲ ژن KLF6 در آن‌ها دچار موتاسیون شده است.

در یکی از مطالعات اولیه که توسط Narla و همکاران بر روی ۲۲ نمونه‌ی اولیه‌ی سرطان پروستات انجام شد، ۷۱ درصد از نمونه‌های بافتی دچار موتاسیون بر روی ژن KLF6 بودند (۱۶).

در مطالعه‌ای که توسط Chen و همکاران در امریکا بر روی ۹۶ نمونه‌ی سرطان پروستات انجام گرفت، در ۱۵ درصد از نمونه‌ها (۱۴ مورد)، تغییرات توالی سوماتیک در ژن KLF6 به چشم خورد. نتایج این مطالعه نشان داد که بیشترین موتاسیون در ژن KLF6 در اگزون شماره‌ی ۲ روی داده بود؛ به طوری که از ۱۴ مورد موتاسیون مشخص شده در این ژن، ۱۰ مورد مربوط به اگزون شماره‌ی ۲ بود (۱۷).

در مطالعه‌ی دیگری که توسط Muhlbauer و همکاران جهت بررسی موتاسیون ژن KLF6 بر روی ۳۲ نمونه‌ی سرطان پروستات از بیماران با نژاد اروپایی با درجه‌بندی متوسط ۷/۳ انجام شد، بر خلاف مطالعه‌ی ما در هیچ کدام از نمونه‌های سرطانی موتاسیون در ژن KLF6 دیده نشد (۲۳).

بنابراین با توجه به مطالعات انجام شده به نظر می‌رسد موتاسیون این ژن منجر به تغییرات اسیدهای آمینه متعاقب تولید کدون متوقف کننده شده، در نهایت پروتئین ناقص تولید می‌گردد که این روند با بر هم زدن مرگ برنامه‌ریزی شده‌ی سلول موجب بروز سرطان می‌شود که در این زمینه نیاز به بررسی بیشتر می‌باشد.

www.mui.ac.ir

نتیجه‌گیری

با توجه به فراوانی بیشتر موتاسیون اگزون شماره‌ی ۲ ژن KLF6 با درجه پیشرفته‌ی سرطان پروستات می‌توان گفت بر اساس این مطالعه، وجود موتاسیون اگزون شماره‌ی ۲ ژن KLF6 می‌تواند نشانه‌ی پیش‌آگهی ضعیف این سرطان باشد.

References

1. Sadjadi A, Nooraie M, Ghorbani A, Alimohammadian M, Zahedi MJ, Darvish-Moghadam S, et al. The incidence of prostate cancer in Iran: results of a population-based cancer registry. Arch Iranian Med 2007; 10(4): 481-5.
2. Kramer BS, Hagerty KL, Justman S, Somerfield MR, Albertsen PC, Blot WJ, et al. Use of 5-alpha-reductase inhibitors for prostate cancer chemoprevention: American Society of Clinical Oncology/American Urological Association 2008 Clinical Practice Guideline. J Clin Oncol 2009; 27(9): 1502-16.
3. Isaacs WB, Xu J, Walsh PC. Hereditary prostate cancer. In: Chung LW, Isaacs WB, Simons JW, editors. Prostate Cancer: Biology, Genetics and the New Therapeutics.Totowa, NJ: Humana Press; 2001. p. 13-37.
4. Steinberg GD, Carter BS, Beaty TH, Childs B, Walsh PC. Family history and the risk of prostate cancer. Prostate 1990; 17(4): 337-47.
5. Jemal A, Murray T, Ward E, Samuels A, Tiwari RC, Ghafoor A, et al. Cancer statistics, 2005. CA Cancer J Clin 2005; 55(1): 10-30.
6. Wilson S, Greer B, Hooper J, Zijlstra A, Walker B, Quigley J, et al. The membrane-anchored serine protease, TMPRSS2, activates PAR-2 in prostate cancer cells. Biochem J 2005; 388(Pt 3): 967-72.
7. DeMarzo AM, Nelson WG, Isaacs WB, Epstein JI. Pathological and molecular aspects of prostate cancer. Lancet 2003; 361(9361): 955-64.
8. Whang YE, Wu X, Suzuki H, Reiter RE, Tran C, Vessella RL, et al. Inactivation of the tumor suppressor PTEN/MMAC1 in advanced human prostate cancer through loss of expression. Proc Natl Acad Sci U S A 1998; 95(9): 5246-50.
9. Bookstein R. Tumour suppressor genes in prostate cancer. In: Chung LW, Isaacs WB, Simons JW, editors. Prostate Cancer: Biology, Genetics and the New Therapeutics. Totowa, NJ: Humana Press; 2001. p. 61-93.
10. Fukuhara H, Maruyama T, Nomura S, Oshimura M, Kitamura T, Sekiya T, et al. Functional evidence for the presence of tumor suppressor gene on chromosome 10p15 in human prostate cancers. Oncogene 2001; 20(3): 314-9.
11. Reeves HL, Narla G, Ogunbiyi O, Haq AI, Katz A, Benzeno S, et al. Kruppel-like factor 6 (KLF6) is a tumor-suppressor gene frequently inactivated in colorectal cancer. Gastroenterology 2004; 126(4): 1090-103.
12. Koivisto PA, Zhang X, Sallinen SL, Sallinen P, Helin HJ, Dong JT, et al. Absence of KLF6 gene mutations in human astrocytic tumors and cell lines. Int J Cancer 2004; 111(4): 642-3.
13. Chen HK, Liu XQ, Lin J, Chen TY, Feng QS, Zeng YX. Mutation analysis of KLF6 gene in human nasopharyngeal carcinomas. Ai Zheng 2002; 21(10): 1047-50.
14. Gehrau RC, D'Astolfo DS, Dumur CI, Bocco JL, Koritschoner NP. Nuclear expression of KLF6 tumor suppressor factor is highly associated with overexpression of ERBB2 oncoprotein in ductal breast carcinomas. PLoS One 2010; 5(1): e8929.
15. Sangodkar J, Shi J, DiFeo A, Schwartz R, Bromberg R, Choudhri A, et al. Functional role of the KLF6 tumour suppressor gene in gastric cancer. Eur J Cancer 2009; 45(4): 666-76.
16. Narla G, Heath KE, Reeves HL, Li D, Giono LE, Kimmelman AC, et al. KLF6, a candidate tumor suppressor gene mutated in prostate cancer. Science 2001; 294(5551): 2563-6.
17. Chen C, Hyytinen ER, Sun X, Helin HJ, Koivisto PA, Frierson HF, Jr., et al. Deletion, mutation, and loss of expression of KLF6 in human prostate cancer. Am J Pathol 2003; 162(4): 1349-54.
18. Chen CH, Huang PH, Chu PC, Chen MC, Chou CC, Wang D, et al. Energy restriction-mimetic agents induce apoptosis in prostate cancer cells in part through epigenetic activation of KLF6 tumor suppressor gene expression. J Biol Chem 2011; 286(12): 9968-76.
19. D'Astolfo DS, Gehrau RC, Bocco JL, Koritschoner NP. Silencing of the transcription factor KLF6 by siRNA leads to cell cycle arrest and sensitizes cells to apoptosis induced by DNA damage. Cell Death Differ 2008; 15(3): 613-6.
20. Suzuki T, Yamamoto T, Kurabayashi M, Nagai R, Yazaki Y, Horikoshi M. Isolation and initial characterization of GBF, a novel DNA-binding zinc finger protein that binds to the GC-rich binding sites of the HIV-1 promoter. J Biochem 1998; 124(2): 389-95.
21. Kim Y, Ratziu V, Choi SG, Lalazar A, Theiss G, Dang Q, et al. Transcriptional activation of transforming growth factor *beta* 1 and its receptors by the kruppel-like factor Zf9/Core pomoter-binding

www.mui.ac.ir

endothelial cells. Blood 2000; 95(4): 1309-16.
23. Muhlbauer KR, Grone HJ, Ernst T, Grone E, Tschada R, Hergenhahn M, et al. Analysis of human prostate cancers and cell lines for mutations in the TP53 and KLF6 tumour suppressor genes. Br J Cancer 2003; 89(4): 687-90.

protein and Sp1. J Biol Chem 1998; 273(50): 33750-8.
22. Kojima S, Hayashi S, Shimokado K, Suzuki Y, Shimada J, Crippa MP, et al. Transcriptional activation of urokinase by the Kruppel-like factor Zf9/COPEB activates latent TGF-beta1 in vascular

Journal of Isfahan Medical School Original Article

Vol 29, No 165, 1st week, February 2012 Received: 3.9.2011 Accepted: 16.11.2011

The Frequency of Exon 2 Mutations of KLF6 Tumor Suppressor Gene in Prostate Cancer Specimens

Mehdi Nikbakht Dastjerdi PhD[1], Javad Ramezani[2]

Abstract

Background: Prostate cancer is an important disease whose many genetic aspects are still uncovered in spite of the wide spectrum of the studies previously performed on its genetic and environmental risk factors. According to the previous studies, KLF6, a suppressor gene dealing with prostate cancer, is exposed to genetic changes. Among all these changes, mutation of exon No. 2, which is in relation with disease prognosis, is common. The few studies conducted on the mutation of KLF6 gene have shown a relation between mutation and environmental factors as well as race and geographic conditions. The goal of this study was to investigate the mutation of exon No. 2 of KLF6 gene in people who suffer from prostate cancer in city of Isfahan, Iran.

Methods: The study was carried out on microscopically and pathologically proved cases of prostate cancer in Isfahan, Iran, during 2009-2011. The samples were taken by prostatectomy or biopsy from 40 patients suffering the disease. A procedure including DNA extraction, determination of quality and quantity of DNA, PCR (using specific primers to replicate exon No. 2), polyacrylamide gel electrophoreses, and data analysis was performed on the samples to determine the mutation in exon No. 2 of KLF6 gene.

Findings: Overall, 80% of the patients (32 people) were above 60 years of age. Only 17.5% of the patients (7 people) had mutation in exon No. 2 of KLF6 gene. There was no significant relation between the mutation of exon No. 2 of KLF6 gene and the age of the patients. A significant relation was found between the presence of mutation and tumor grading in the studied patients.

Conclusion: The frequency of mutation in exon No. 2 of KLF6 gene was higher in cancer samples with higher grade. This finding can be a sign of weak prognosis in samples whose exon No. 2 of KLF6 gene has been mutated.

Keywords: Tumor suppressor genes, KLF6, Mutation, Prostate cancer.

*This paper is derived from a medical thesis No. 390160 in Isfahan University of Medical Sciences.

[1] Associate Professor, Department of Anatomical Sciences, School of Medicine, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran

[2] Student of Medicine, Student Research Committee, School of Medicine, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran

Corresponding Author: Mehdi Nikbakht Dastjerdi PhD, Email: nikbakht@med.mui.ac.ir