

## بررسی پلی مورفیسم تکرار CAC در ژن HOXA1 و ارتباط آن با سرطان پستان

سمیه نجفی درجه<sup>۱</sup>، دکتر منوچهر توسلی<sup>۲</sup>، دکتر سیمین همتی<sup>۳</sup>، فروزان صفری<sup>۴</sup>

### مقاله پژوهشی

### چکیده

**مقدمه:** HOXA1 یک عامل رونویسی می‌باشد. این ژن در طی رشد و تکثیر طبیعی سلول‌های اپی‌تلیال پستان، یا بیان نمی‌شود یا بیان آن بسیار کم است؛ اما در سرطان پستان افزایش بیان پیدا می‌کند. تاکنون مطالعه‌ای در مورد ارتباط تعداد تکرارهای CAC (پلی هیستیدین) واقع در اگزون ۱ ژن HOXA1 و سرطان صورت نگرفته است. هدف این پژوهش، بررسی پلی مورفیسم CAC واقع در اگزون ۱ ژن HOXA1 در بین مبتلایان به سرطان پستان و افراد سالم و ارتباط آن با سرطان پستان می‌باشد.

**روش‌ها:** در این پژوهش، نمونه‌ی خون ۱۹۳ زن مبتلا به سرطان پستان و ۲۰۰ زن سالم جمع‌آوری و بررسی شد. پس از استخراج DNA ژنومی از خون محیطی و تکثیر توالی مورد نظر، تعداد تکرار و توالی CAC به وسیله‌ی الکتروفورز بر روی ژل پلی‌آکریل‌آمید و تعیین توالی به دست آمد.

**یافته‌ها:** در این مطالعه، ۵ آلل متفاوت از تکرار CAC بین ۳ تا ۷ تکرار و ۵ ترکیب آلی (ژنوتیپ) مختلف در بین افراد شاهد و مورد مشاهده شد. بیشترین فراوانی آلی در میان افراد بیمار و سالم مربوط به آلل ۷ تکرار بود. هیچ گونه ارتباط معنی‌داری بین این پلی مورفیسم و خطر ابتلا به سرطان پستان مشاهده نشد. بررسی‌های آماری نشان داد که بین ژنوتیپ‌های هموزیگوت ۷ و گیرنده‌های استروژن و پروژسترون، ارتباط معنی‌داری وجود دارد.

**نتیجه‌گیری:** بین توالی تکراری CAC در اگزون ۱ ژن HOXA1 و خطر ابتلا به سرطان پستان ارتباط معنی‌داری وجود ندارد، اما بین ژنوتیپ‌های هموزیگوت ۷ و گیرنده‌های استروژن و پروژسترون ارتباط معنی‌داری وجود دارد.

**واژگان کلیدی:** HOXA1، سرطان پستان، تکرار CAC، پلی مورفیسم

**ارجاع:** نجفی درجه سیمیه، توسلی منوچهر، همتی سیمین، صفری فروزان. بررسی پلی مورفیسم تکرار CAC در ژن HOXA1 و ارتباط

آن با سرطان پستان. مجله دانشکده پزشکی اصفهان ۱۳۹۳؛ ۳۲ (۲۸۵): ۶۶۸-۶۶۰

### مقدمه

سرطان پستان شایع‌ترین سرطان و نیز مهم‌ترین عامل مرگ‌های سرطانی در بین زنان است (۱). تحقیقات نشان می‌دهد سرطان پستان یکی از فراوان‌ترین بدخیمی‌ها در میان زنان ایرانی می‌باشد؛ به صورتی که از هر ۱۰۰۰۰۰ زن ایرانی ۱۲۰ نفر به این سرطان

مبتلا می‌شوند (۲-۳).

سرطان پستان یک فرایند چند مرحله‌ای است و ژن‌های بسیاری شامل BRCA1/2، TP53، PIK3، PTEN، STK11 و CDH1 در بروز آن دخالت دارند (۴-۵). عوامل رونویسی یک نقش مرکزی در تکامل جنین دارند (۶). ژن‌های Hox (Hox genes) عوامل

۱- دانشجوی کارشناسی ارشد، گروه زیست‌شناسی، دانشکده‌ی علوم، دانشگاه اصفهان، اصفهان، ایران

۲- دانشیار، گروه زیست‌شناسی، دانشکده‌ی علوم، دانشگاه اصفهان، اصفهان، ایران

۳- استادیار، گروه پرستودرمانی، دانشکده‌ی پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران

۴- کارشناس ارشد، گروه زیست‌شناسی، دانشکده‌ی علوم، دانشگاه اصفهان، اصفهان، ایران

رونویسی را کد می کنند. این عوامل در تکامل، تمایز، تحرک، رگ زایی و آپوپتوز نقش دارند. بنابراین تغییر در بیان آن‌ها نقش مهمی در آنکوژنز یا مهار تومور دارد (۷).

در پستانداران، ۴ گروه از ژن‌های HOX بر روی ۴ کروموزوم مختلف وجود دارند و بیان این ژن‌ها در سرطان‌های مختلف، متفاوت می باشد. تحقیقات نشان می دهد که بیان خارج از کنترل ژن HOX در سرطان پستان، مثانه، ملانوما، تخمدان و سلول‌های پوششی دهان دخالت دارند (۸-۱۵). ۱۷ مورد از ژن‌های HOX در بافت طبیعی پستان بیان می شوند که بیان مشابه آن‌ها در بافت طبیعی و سرطانی پستان نشان می دهد که آن‌ها در ارگانوژنز پستان دخالت دارند (۱۶). حداقل ۱۱ ژن HOX از جمله ژن HOXA1 در سرطان پستان دخالت دارند (۱۷). ژن HOXA1 در طی رشد و تکثیر طبیعی سلول‌های اپی تلیال پستان، بیان نمی شود یا بسیار کم بیان می شود؛ اما در سرطان پستان افزایش بیان پیدا می کند (۱۸-۱۹).

تحقیقات نشان می دهد پروتئین HOXA1 دارای توالی حفاظت شده‌ی متصل شونده به DNA است و از طریق تریپتوفان و متیونین حفاظت شده با PBX (Pre-B-cell-leukemia homeobox) میان کنش می دهد و به عنوان عامل رونویسی به DNA متصل می شود (۲۰). بیان ژن‌های HOX در سلول‌های طبیعی پستان به وسیله‌ی هورمون‌ها (مانند هورمون رشد انسانی)، ماتریکس خارج سلولی و عوامل ناشناخته‌ی دیگر کنترل می شود (۲۱، ۱۷). رشد تومور در سلول‌های اپی تلیال پستان با افزایش بیان هورمون رشد انسانی (hGH یا Human growth hormone) مرتبط می باشد و محصولات hGH سبب افزایش بیان و

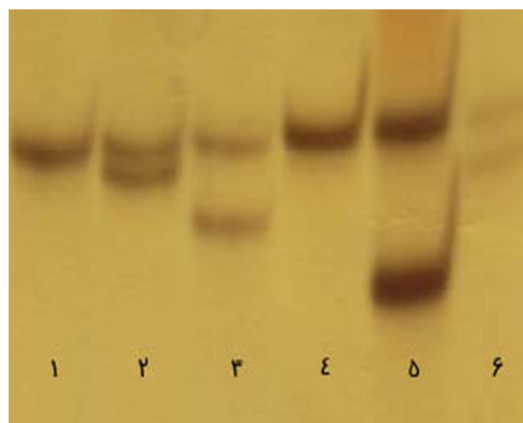
رونویسی HOXA1 می شوند (۲۵-۲۲).

علاوه بر این، افزایش بیان HOXA1 در سلول‌های سرطان پستان سبب راه‌اندازی مسیر MAPK (Mitogen-activated protein kinase) می شود و از این طریق، سبب افزایش بیان Bcl-2 (B cell lymphoma-۲)، یک عامل ضد آپوپتوز، می شود و در نتیجه، تعداد سلول‌ها افزایش می یابد. بیان HOXA1 سبب افزایش تکثیر مستقل سلول‌ها و سرطانی شدن آن‌ها و شکل‌گیری تومورهای بدخیم می شود. افزایش بیان HOXA1 نیز سبب مهار پاسخ سلول‌های سرطانی به داروهای ضد سرطان نظیر داونوروبیسین (Daunorubicin) (۲۶) و دوکسوروبیسین (Doxorubicin) (۲۷) می گردد.

در این مطالعه، پلی مورفیسم تکرار CAC در اگزون ۱ ژن HOXA1 و ارتباط آن با خطر ابتلا به سرطان پستان در جمعیت اصفهان مورد بررسی قرار گرفت.

### روش‌ها

نمونه‌ی خون تام ۱۹۳ زن بیمار مبتلا به سرطان پستان که تحت شیمی درمانی و رادیو درمانی قرار داشتند، با رضایت بیماران از بیمارستان سیدالشهدای (ع) اصفهان جمع‌آوری شد. همچنین نمونه‌ی خون تام ۲۰۰ زن سالم که جهت بررسی وضعیت سلامتی خود به بیمارستان مراجعه کرده بودند، جمع‌آوری شد. اطلاعات مربوط به سن، سابقه‌ی فامیلی ابتلا به سرطان پستان (در خویشاوندان درجه‌ی یک و دو)، متاستاز و وضعیت گیرنده‌ها از پرونده‌ی افراد مورد بررسی، استخراج شد. از نمونه‌ی خون افراد مورد مطالعه، DNA ژنومی به روش رسوب‌دهی نمکی استخراج گردید (۲۸) و ناحیه‌ی ژنی مورد نظر توسط پرایمرهای پیش‌رو



شکل ۱. تصویر ژل پلی آکریل آمید ۱۰ درصد جهت بررسی پلی مورفیسم CAC در آگزون ۱ ژن HOXA1. اندازه‌های متفاوت آلل‌ها نشان دهنده‌ی اختلاف در تعداد تکرار CAC افراد مختلف می‌باشد. در نمونه‌ی شماره‌ی ۵، کوچک‌ترین (۳ تکرار) و بزرگ‌ترین (۷ تکرار) آلل قابل مشاهده می‌باشند. نمونه‌های شماره‌ی ۱ و ۴ هموزیگوت ۷/۷، شماره‌ی ۲ هتروزیگوت ۶/۷، شماره‌ی ۳ هتروزیگوت ۴/۷، شماره‌ی ۵ هتروزیگوت ۳/۷ و شماره‌ی ۶ هتروزیگوت ۵/۷ می‌باشند. نمونه‌ی شماره‌ی ۲ جهت تعیین توالی انتخاب شد.

پس از مشاهده‌ی پلی مورفیسم، نمونه‌ی هتروزیگوت شماره‌ی ۲ توسط کیت استخراج DNA از ژل آگارز شرکت فرمتاز خالص‌سازی شد. سپس جهت تعیین توالی به شرکت سیناکلون ارسال شد تا به عنوان نشانگر آللی مورد استفاده قرار گیرد (شکل ۲). به کمک این نشانگر، طول تکرار آلل‌های مورد و شاهد، تعیین و فراوانی آللی ژن HOXA1 محاسبه گردید. پس از آن، اطلاعات آماری توسط نرم‌افزار SISA انجام شد. در ابتدا فراوانی ترکیبات آللی و فراوانی آلل‌های ژن مورد نظر مشخص شد و سپس ارتباط این تکرارها با بروز سرطان به کمک آزمون  $\chi^2$  و (Odd ratio) توسط آزمون رگرسیون محاسبه شد. سطح معنی‌داری کوچک‌تر از  $P < 0.05$  از لحاظ آماری مقبول فرض شد.

۵'-TTTCCAGTCGTGCGGGTCAG-۳' پیرو  
 ۵'-AGGTTCCCGGAAGTCTGGTAGGT-۳' تکتیر گردید.

واکنش زنجیره‌ای پلی‌مراز (PCR یا Polymerase chain reaction) در حجم نهایی ۲۵ میکرولیتر حاوی ۲۰۰-۱۰۰ نانوگرم DNA ژنومی، ۲۰۰ میکرو مولار (Deoxyribonucleotide) dNTPs، ۱۰۰ نانومولار از هر یک از پرایمرهای پیش‌رو و پیرو، ۲/۵ میکرولیتر از بافر ۱۰ X PCR، ۱/۵ میلی‌مولار  $MgCl_2$ ، ۱ مولار بتائین، ۲/۵ میکرولیتر از دی متیل سولفوکساید ۱۰ درصد و ۲ واحد آنزیم SmarTaq DNA polymerase (شرکت سیناژن تهران) در دستگاه ترموسایکلر شرکت اپندورف انجام شد.

پس از واسرشت شدن اولیه در دمای ۹۴ درجه‌ی سانتی‌گراد به مدت ۵ دقیقه، ۳۳ سیکل PCR در دمای ۹۴ درجه‌ی سانتی‌گراد به مدت ۱ دقیقه به منظور واسرشت شدن رشته‌ها، ۵۲ درجه‌ی سانتی‌گراد به مدت ۱ دقیقه جهت اتصال پرایمرها و ۷۲ درجه‌ی سانتی‌گراد به مدت ۱ دقیقه جهت گسترش پرایمرها انجام شد. یک سیکل انتهایی نیز جهت تکثیر توالی‌های ناقص به مدت ۱۰ دقیقه در دمای ۷۲ درجه‌ی سانتی‌گراد در نظر گرفته شد. محصولات حاصل از واکنش زنجیره‌ای پلی‌مراز توسط ژل آگارز ۱ درصد تأیید و جهت بررسی پلی مورفیسم ژن HOXA1 از الکتروفورز ژل پلی آکریل آمید ۱۰ درصد غیر واسرشت (Non-Denaturing PAGE یا Non-Denaturing polyacrylamide gel electrophoresis) استفاده شد. ژل با روش نیترات نقره رنگ‌آمیزی و نتایج توسط اسکنر ثبت شد (شکل ۱).



متاستاز و وضعیت گیرنده‌ها بررسی شد (جدول ۵ و ۶). سپس این اطلاعات توسط آزمون رگرسیون بررسی شدند. نتایج این بررسی‌های آماری نشان داد که بین ژنوتیپ ۷/۷ و گیرنده‌های استروژن و پروژسترون ارتباط معنی‌داری وجود دارد.

جدول ۳. فراوانی انواع ترکیبات آللی مشاهده شده در بین افراد گروه‌های مورد و شاهد

ژنوتیپ	افراد مورد تعداد (درصد)	افراد شاهد تعداد (درصد)
۳/۷	۱ (۰/۵۲)	۰
۴/۷	۱ (۰/۵۲)	۴ (۲/۰۰)
۵/۷	۰	۱ (۰/۵۰)
۶/۷	۱۹ (۹/۸۴)	۱۵ (۷/۵۰)
۷/۷	۱۷۲ (۸۹/۱۲)	۱۸۰ (۹۰/۰۰)
کل	۱۹۳ (۱۰۰)	۲۰۰ (۱۰۰)

همچنین در افراد مورد بررسی، ۵ ترکیب آللی (ژنوتیپ) مختلف شناسایی شد که در میان آن‌ها ترکیب آللی ۷/۷ بیشترین فراوانی را در هر دو گروه شاهد (۹۰/۰۰ درصد) و مورد (۸۹/۱۲ درصد) به خود اختصاص داده بود. ترکیب آللی ۵/۷ فقط در افراد شاهد و ترکیب آللی ۳/۷ فقط در گروه مورد مشاهده شد. در جدول ۳، توزیع فراوانی هر ترکیب آللی در بین افراد گروه‌های مورد و شاهد آمده است. آزمون رگرسیون لجستیک نشان داد که طول توالی تکراری CAC نمی‌تواند به عنوان یک عامل مؤثر در ایجاد سرطان پستان ایفای نقش کند (جدول ۲ و ۴). در مرحله‌ی بعد، ارتباط طول تکرار CAC در ژن HOXA1 با عوامل سن، سابقه‌ی فامیلی ابتلا به سرطان پستان (در خویشاوندان درجه‌ی یک و دو)،

جدول ۴. بررسی ارتباط بین ژنوتیپ‌های مختلف و خطر ابتلا به سرطان پستان

نوع ترکیب آللی	OR	فاصله‌ی اطمینان	مقدار P
۵/۷+۴/۷+۳/۷	۰/۴۰۸	۰/۰۷۸-۲/۱۳	۰/۲۷۳
۶/۷	۱/۳۴۷	۰/۶۶۴-۲/۷۳۴	۰/۴۰۸
۷/۷	۰/۹۱۰	۰/۴۷۶-۱/۷۳۸	۰/۷۷۵

OR: Odds ratio

جدول ۵. بررسی ارتباط بین ژنوتیپ ۷/۷ و گیرنده‌ی استروژن

ژنوتیپ	تعداد		OR (فاصله‌ی اطمینان ۹۵ درصد)	مقدار P
	ER-	ER+		
۷/۷	۲۷	۶۶	۴/۰۷۴ (۱/۳۴۷-۱۲/۳۲۲)	۰/۰۰۹
سایر ژنوتیپ‌ها	۱۰	۶	۴/۰۷۴ (۱/۳۴۷-۱۲/۳۲۲)	

ER: Estrogen receptor; OR: Odds ratio

جدول ۶. بررسی ارتباط بین ژنوتیپ ۷/۷ و گیرنده‌ی پروژسترون

ژنوتیپ	تعداد		OR (فاصله‌ی اطمینان ۹۵ درصد)	مقدار P
	PR-	PR+		
۷/۷	۳۱	۶۲	۳/۳۳۳ (۱/۱۰۹-۱۰/۰۱۵)	۰/۰۲۶
سایر ژنوتیپ‌ها	۱۰	۶		

PR: Progesterone receptor; OR: Odds ratio

## بحث

ژن‌های HOX نه تنها در تکامل، تمایز، تحرک و رگ‌زایی دخالت دارند؛ بلکه در آپوپتوز هم نقش مهمی دارند. بنابراین، تغییرات در بیان آن‌ها می‌تواند هم در تومورزایی و هم در سرکوب تومور و در نتیجه، تشخیص و درمان تومور نقش داشته باشد. بیان بیش از حد HOXA1 سبب افزایش پروتئین‌های MEK1 (MAPK/ERK kinase) و GRB2 (Growth factor receptor-bound protein2) و افزایش فسفریلاسیون مسیر P44/42MAPK می‌شود. بنابراین راه‌اندازی این مسیر می‌تواند یکی از مکانیسم‌هایی باشد که HOXA1 سبب تغییر آنکوژنیک سلول‌های اپی‌تلیال پستان انسان می‌شود.

DNAهای ماهواره‌ای ریز یا STRها (Short tandem repeats) با قرار گرفتن در توالی افزایش دهنده‌ها و یا حتی خارج از توالی آن‌ها و شاید با تغییر ساختمان ایجاد شده، می‌توانند بر روی بیان ژن‌ها تأثیر بگذارند. STRها همچنین با قرار گرفتن در ایترون‌ها و تغییر ساختمان ایجاد شده، می‌توانند در سرعت جدا شدن ایترون‌ها و در نتیجه بر بیان ژن‌ها تأثیر بگذارند.

تاکنون مطالعه‌ای بر روی پلی مورفیسم این میکروستلایت ژن HOXA1 و ارتباط آن با سرطان انجام نشده است. در این پژوهش، الگوی پراکندگی و فراوانی آلل‌ها و ژنوتیپ‌های مختلف میکروستلایت اگزون 1 ژن HOXA1 و ارتباط آن با سرطان پستان در منطقه‌ی اصفهان مورد بررسی قرار گرفت. نتایج این مطالعات نشان داد که ارتباط معنی‌داری بین پلی مورفیسم CAC در ژن HOXA1 و خطر ابتلا به سرطان پستان وجود ندارد.

Paraguison و همکاران نشان دادند که HOXA1

شامل 10 تکرار هیستیدین می‌باشد، اما افراد هتروزیگوت برای واریانت‌های 7، 9، 11 و 12 تکرار نیز در بین جمعیت ژاپن مشاهده شد. HOXA1 در اثر Splicing فرعی، دو ایزوفرم A و B را تولید می‌نماید. Paraguison و همکاران به منظور نشان دادن تأثیر طول توالی تکراری هیستیدین، واریانت‌های متفاوت HOXA1 را در لاین سلولی نوروبلاستوما انسان و لاین سلولی شبه فیروپلاستی مشتق شده از بافت کلیه‌ی میمون COS-7 [CV-1 (simian) in Origin, and carrying the SV40 genetic material] بیان کردند. نتایج مطالعه‌ی آن‌ها نشان داد که افزایش واریانت ایزوفرم A این ژن که شامل هیستیدین 11 و 12 تکرار می‌باشند، سبب درجه‌ی بیشتر و سریع‌تر تجمع هسته‌ای این پروتئین و در نتیجه، افزایش مرگ سلولی در این سلول‌ها در مقایسه با واریانت‌های 7 و 10 تکرار می‌باشد. آن‌ها همچنین نشان دادند که ترکیب اصلاح‌کننده‌ی هیستیدین به نام DEPC (Diethylpyrocarbonate) سبب Ubiquitin کردن و مهار این تجمع می‌شود. این یافته‌ها نشان می‌دهد پروتئین HOXA1 با پلی هیستیدین وسیع، سبب تجمع نامناسب می‌شود و دارای اثر سمی بر سلول می‌باشد (29).

Paraguison و همکاران نشان دادند که افزایش

تکرارهای پلی هیستیدین نه تنها سبب افزایش تجمع داخل هسته‌ای می‌شوند، همچنین باعث تجمع سیتوپلاسمی در مراحل ابتدایی بیان می‌شوند. آن‌ها همچنین نشان دادند که راپامایسین که یک محرک اتوفازی می‌باشد، سبب کاهش تجمع پروتئین‌ها و

و پروژستین سبب افزایش بیان HOXA1 می شود (۱۸).

به طور خلاصه، نتایج حاصل از پژوهش حاضر بیانگر این بود که بین توالی تکراری CAC در ژن HOXA1 و افزایش خطر ابتلا به سرطان پستان ارتباط معنی داری وجود نداشت. بنابراین، اگرچه مطالعات قبلی نشان می داد که افزایش تکرارهای هیستیدین سبب افزایش تجمع داخل هسته ای و سرعت دادن به مرگ سلولی می شود و پروتئین هایی که در آن ها توالی تکراری هیستیدین حذف شده است، منجر به تجمع داخل هسته ای نمی شوند، در این پژوهش ارتباطی مشاهده نشد. بررسی های آماری نشان داد که بین ژنوتیپ ۷/۷ و گیرنده های استروژن و پروژسترون ارتباط معنی داری وجود دارد.

### تشکر و قدردانی

از حمایت مالی مدیریت پژوهشی دانشگاه اصفهان جهت انجام این پژوهش تشکر و قدردانی می شود.

مرگ سلولی می شود. آن ها در این مطالعه، اثر واریانت های متفاوت HOXA1 و عامل مشترک PBX1 (PBX1 cofactor) را مورد بررسی قرار دادند. تحقیقات آن ها نشان می داد که افزایش واریانت های HOXA1 سبب کاهش میان کنش آن با عامل مشترک PBX1 می شود (۳۰).

با این وجود، نتایج این پژوهش ارتباط معنی داری بین تعداد تکرارهای هیستیدین و خطر ابتلا به سرطان پستان را نشان نداد؛ اما ارتباط معنی داری بین ژنوتیپ هموزیگوت بزرگ ترین تکرار و گیرنده های استروژن ( $OR = 4/0$ ) و پروژسترون ( $OR = 3/3$ ) مشاهده شد.

تحقیقات قبلی نشان می دهد که هیستون دمتیلاز KDM3A (از عوامل مشترک گیرنده ای استروژن) از طریق اتصال به منطقه ی پروموتوری ژن HOXA1 و دمتیله کردن H3 در لیزین ۹، سبب فعال کردن رونویسی HOXA1 می شود (۳۱). از سوی دیگر، تحقیقات نشان می دهد که HOXA1 از اهداف پایین دست پروژستین (نوعی پروژسترون ساختگی) است

### References

- Jemal A, Bray F, Center MM, Ferlay J, Ward E, Forman D. Global cancer statistics. CA: A Cancer Journal for Clinicians 2011; 61(2): 69-90.
- Yavari P, Mosavizadeh M, Sadrol-Hefazi B, Mehrabi Y. Reproductive characteristics and the risk of breast cancer--a case-control study in Iran. Asian Pac J Cancer Prev 2005; 6(3): 370-5.
- Mousavi SM, Montazeri A, Mohagheghi MA, Jarrahi AM, Harirchi I, Najafi M, et al. Breast cancer in Iran: an epidemiological review. Breast J 2007; 13(4): 383-91.
- Campeau PM, Foulkes WD, Tischkowitz MD. Hereditary breast cancer: new genetic developments, new therapeutic avenues. Hum Genet 2008; 124(1): 31-42.
- Palacios J, Robles-Frias MJ, Castilla MA, Lopez-Garcia MA, Benitez J. The molecular pathology of hereditary breast cancer. Pathobiology 2008; 75(2): 85-94.
- Svingen T, Tonissen KF. Altered HOX gene expression in human skin and breast cancer cells. Cancer Biol Ther 2003; 2(5): 518-23.
- Samuel S, Naora H. Homeobox gene expression in cancer: insights from developmental regulation and deregulation. Eur J Cancer 2005; 41(16): 2428-37.
- Pilato B, Pinto R, De SS, Lambo R, Paradiso A, Tommasi S. HOX gene methylation status analysis in patients with hereditary breast cancer. J Hum Genet 2013; 58(1): 51-3.
- Lewis MT. Homeobox genes in mammary gland development and neoplasia. Breast Cancer Res 2000; 2(3): 158-69.
- Kelly ZL, Michael A, Butler-Manuel S, Pandha HS, Morgan RG. HOX genes in ovarian cancer. J Ovarian Res 2011; 4: 16.
- Bitu CC, Destro MF, Carrera M, da Silva SD, Graner E, Kowalski LP, et al. HOXA1 is

- overexpressed in oral squamous cell carcinomas and its expression is correlated with poor prognosis. *BMC Cancer* 2012; 12: 146.
12. Makiyama K, Hamada J, Takada M, Murakawa K, Takahashi Y, Tada M, et al. Aberrant expression of HOX genes in human invasive breast carcinoma. *Oncol Rep* 2005; 13(4): 673-9.
  13. Shah N, Sukumar S. The Hox genes and their roles in oncogenesis. *Nat Rev Cancer* 2010; 10(5): 361-71.
  14. Wardwell-Ozgo J, Dogruluk T, Gifford A, Zhang Y, Heffernan TP, van DR, et al. HOXA1 drives melanoma tumor growth and metastasis and elicits an invasion gene expression signature that prognosticates clinical outcome. *Oncogene* 2014; 33(8): 1017-26.
  15. Marra L, Cantile M, Scognamiglio G, Perdoni S, La ME, Cerrone M, et al. Deregulation of HOX B13 expression in urinary bladder cancer progression. *Curr Med Chem* 2013; 20(6): 833-9.
  16. Cantile M, Pettinato G, Procino A, Feliciello I, Cindolo L, Cillo C. In vivo expression of the whole HOX gene network in human breast cancer. *Eur J Cancer* 2003; 39(2): 257-64.
  17. Chen H, Sukumar S. Role of homeobox genes in normal mammary gland development and breast tumorigenesis. *J Mammary Gland Biol Neoplasia* 2003; 8(2): 159-75.
  18. Chariot A, Castronovo V. Detection of HOXA1 expression in human breast cancer. *Biochem Biophys Res Commun* 1996; 222(2): 292-7.
  19. Briegel KJ. Embryonic transcription factors in human breast cancer. *IUBMB Life* 2006; 58(3): 123-32.
  20. Delval S, Taminiou A, Lamy J, Lallemand C, Gilles C, Noë A, et al. The Pbx Interaction Motif of Hoxa1 Is Essential for Its Oncogenic Activity. *PLoS ONE* 2011; 6(9): 1.
  21. Srebrow A, Friedmann Y, Ravanpay A, Daniel CW, Bissell MJ. Expression of Hoxa-1 and Hoxb-7 is regulated by extracellular matrix-dependent signals in mammary epithelial cells. *J Cell Biochem* 1998; 69(4): 377-91.
  22. Perry JK, Mohankumar KM, Emerald BS, Mertani HC, Lobie PE. The contribution of growth hormone to mammary neoplasia. *J Mammary Gland Biol Neoplasia* 2008; 13(1): 131-45.
  23. Ren Z, Cai Q, Shu XO, Cai H, Cheng JR, Wen WQ, et al. Genetic polymorphisms in the human growth hormone-1 gene (GH1) and the risk of breast carcinoma. *Cancer* 2004; 101(2): 251-7.
  24. Zhu T, Starling-Emerald B, Zhang X, Lee KO, Gluckman PD, Mertani HC, et al. Oncogenic transformation of human mammary epithelial cells by autocrine human growth hormone. *Cancer Res* 2005; 65(1): 317-24.
  25. Pandey V, Perry JK, Mohankumar KM, Kong XJ, Liu SM, Wu ZS, et al. Autocrine human growth hormone stimulates oncogenicity of endometrial carcinoma cells. *Endocrinology* 2008; 149(8): 3909-19.
  26. Cheng W, Liu J, Yoshida H, Rosen D, Naora H. Lineage infidelity of epithelial ovarian cancers is controlled by HOX genes that specify regional identity in the reproductive tract. *Nat Med* 2005; 11(5): 531-7.
  27. Zhang X, Zhu T, Chen Y, Mertani HC, Lee KO, Lobie PE. Human growth hormone-regulated HOXA1 is a human mammary epithelial oncogene. *J Biol Chem* 2003; 278(9): 7580-90.
  28. Miller SA, Dykes DD, Polesky HF. A simple salting out procedure for extracting DNA from human nucleated cells. *Nucleic Acids Res* 1988; 16(3): 1215.
  29. Paraguison RC, Higaki K, Sakamoto Y, Hashimoto O, Miyake N, Matsumoto H, et al. Polyhistidine tract expansions in HOXA1 result in intranuclear aggregation and increased cell death. *Biochem Biophys Res Commun* 2005; 336(4): 1033-9.
  30. Paraguison RC, Higaki K, Yamamoto K, Matsumoto H, Sasaki T, Kato N, et al. Enhanced autophagic cell death in expanded polyhistidine variants of HOXA1 reduces PBX1-coupled transcriptional activity and inhibits neuronal differentiation. *J Neurosci Res* 2007; 85(3): 479-87.
  31. Cho HS, Toyokawa G, Daigo Y, Hayami S, Masuda K, Ikawa N, et al. The JmjC domain-containing histone demethylase KDM3A is a positive regulator of the G1/S transition in cancer cells via transcriptional regulation of the HOXA1 gene. *Int J Cancer* 2012; 131(3): E179-E189.



## The Relationship of CAC Polymorphism in HOXA1 Gene and Breast Cancer

Somayeh Najafi-Dorche<sup>1</sup>, Manoochehr Tavassoli PhD<sup>2</sup>, Simin Hemati MD<sup>3</sup>, Forouzan Safari<sup>4</sup>

### Original Article

#### Abstract

**Background:** HOXA1 is a transcription factor. In the human mammary gland, the expression of the HOXA1 gene is very low or absent during normal growth and differentiation, but it is expressed at high levels in breast cancer lesions. To date, there has been no study on the relationship between CAC repeat (polyhistidine) in the first exon of HOXA1 gene and the cancer risk. The purpose of this study was to investigate polymorphism of CAC in the first exon of HOXA1 gene among patients with breast cancer and healthy individuals to clear the relationship of CAC polymorphism in HOXA1 Gene and the risk of breast cancer.

**Methods:** Peripheral blood samples were collected from 193 women with breast cancer and 200 healthy women. After DNA extraction from peripheral blood samples by salting-out method and amplification of desired sequence by polymerase chain reaction (PCR), the number of CAC repeat was determined by polyacrylamide gel electrophoresis and direct sequencing.

**Findings:** Five different length of CAC repeat in the range of 3-7 and 5 allele combinations (genotypes) were observed among patients and controls. The most frequent allele in both patients and controls was the 7-CAC repeat. No significant association was observed between this allele and breast cancer risk. Statistical analyses showed significant association between homozygote 7 and estrogen and progesterone receptors.

**Conclusion:** Our findings demonstrate that there is no significant association between CAC repeat in exon 1 of HOXA1 gene and breast cancer risk. However, there is a significant association between homozygote 7 genotype and estrogen and progesterone receptors.

**Keywords:** HOXA1, Breast cancer, CAC repeat, Polymorphism

**Citation:** Najafi-Dorche S, Tavassoli M, Hemati S, Safari F. **The Relationship of CAC Polymorphism in HOXA1 Gene and Breast Cancer.** J Isfahan Med Sch 2014; 32(285): 660-8

1- MSc Student, Department of Biology, School of Sciences, University of Isfahan, Isfahan, Iran

2- Associate Professor, Department of Biology, School of Sciences, University of Isfahan, Isfahan, Iran

3- Assistant Professor, Department of Radiotherapy, School of Medicine, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran

4. Department of Biology, School of Sciences, University of Isfahan, Isfahan, Iran

**Corresponding Author:** Manoochehr Tavassoli PhD, Email: manoochehr@biol.ui.ac.ir