مجله دانشکده پزشکی اصفهان **مقاله پژوهشی**
سال بیست و نهم/شماره ۱۵۰/هفته دوم مهر ماه ۱۳۹۰
تاریخ دریافت: ۹۰/۳/۲۵ **تاریخ پذیرش:** ۹۰/۶/۱

تشخیص جهش‌های ژن فسفاتیدیل اینوزیتول ۳-کیناز در سرطان رحم در ایران

معصومه الیاسی[۱]، دکتر منوچهر توسلی[۲]، دکتر مهری فقیهی[۳]، دکتر سیمین همتی[۴]

چکیده

مقدمه: مسیر انتقال پیام فسفاتیدیل اینوزیتول ۳-کیناز (PI3K) فرایندهای مختلف سلولی شامل: تکثیر سلولی، تمایز، مهاجرتّ متابولیسم انسولین و آپوپتوز را کنترل می‌نماید. PI3K فعال‌شده فسفاتیدیل اینوزیتول ۴ و ۵ بیس فسفات (PIP2) را فسفریله و به فسفاتیدیل اینوزیتول ۳ و ۴ و ۵ تری‌فسفات (PIP3) تبدیل می‌کند. سپ. PIP3 حاصله Akt (پروتئین کیناز B) را فعال می‌نماید. فراوانی جهش‌های PIK3CA در سرطان رحم بین ۳۹-۲۴ درصد می‌باشد. بیش از ۹۰ درصد جهش‌ها در دمین هلیکالی (اگزون ۹) و دمین کینازی (اگزون ۲۰) PIK3CA قرار دارند.

روش‌ها: در این مطالعه وجود جهش در اگزون‌های ۹ و ۲۰ PI3K در سرطان رحم به کمک روش SSCP و توالی‌یابی مستقیم در جمعیت اصفهان و نمونه‌های دریافتی از انستیتو کانسر ایران بررسی شد. همچنین ارتباط جهش با درگیری غدد لنفاوی، سن بیمار، مرحله‌ی پیشرفت بیماری و درجه‌ی تومور به وسیله‌ی آزمون χ^2 بررسی شد.

یافته‌ها: بر اساس نتایج این مطالعه ۴۷ درصد نمونه‌ها دارای جهش در ژن PI3K بودند و ۶۰ درصد جهش‌ها در اگزون ۲۰ قرار داشت. در اگزون ۹ علاوه بر جهش مشاهده شده در نقطه‌ی داغ (E542K, G1624A)، یک جهش جدید G1610A (R537Q) نیز مشاهده شد. همچنین یک جهش جدید در کدون ۳۰۵۹ اگزون ۲۰ مشاهده شد (A1020V C3059T) که تاکنون در مورد سرطان رحم گزارش نشده بود. در جمعیت مورد مطالعه ارتباط معنی‌داری بین جهش و درجه‌ی تومور مشاهده شد (OR = ۵/۵ و P = ۰/۰۳) اما ارتباطی بین جهش و متاستاز به غدد لنفاوی، سن بیمار و مرحله‌ی پیشرفت بیماری دیده نشد.

نتیجه‌گیری: نتایج به دست آمده نشان می‌دهند که طیف جهش‌های PIK3CA در جمعیت ما متفاوت است و بررسی تعداد نمونه‌های بیشتر و سایر سرطان‌ها ضرورت دارد.

واژگان کلیدی: سرطان رحم، جهش، آپوپتوز، PIK3CA.

مقدمه

امروزه بیماری سرطان به یک مسأله‌ی اساسی در دنیا تبدیل شده است. در سال ۲۰۱۰ در آمریکا ۱۵۲۹۵۶۰ مورد جدید سرطان شناسایی شد که در ۵۶۹۴۹۰ مورد منجر به مرگ شد. سرطان جسم رحم (Endometrial Cancer) یکی از فراوان‌ترین بدخیمی‌های زنان در جهان غرب است و ۶ درصد کل سرطان‌های لوله‌ی تناسلی زنان را به خود اختصاص می‌دهد. در سال ۲۰۱۰ حدود ۴۳۴۷۰ مورد جدید از سرطان جسم رحم گزارش شد که در ۷۹۵۰ مورد منجر به مرگ بیمار شده است (۱). سرطان جسم رحم در ایران، ۲/۳۵ درصد کل سرطان‌ها را در بین زنان به خود اختصاص داده است. در اصفهان فراوانی این سرطان در بین زنان ۲/۵۱ درصدگزارش شده است و طبق این آمار اصفهان سومین استان کشور از نظر فراوانی این سرطان است (۲).

[۱] دانشجو ، گروه زیست‌شناسی، دانشکده‌ی علوم، دانشگاه اصفهان، اصفهان، ایران
۲ دانشیار، گروه زیست‌شناسی، دانشکده‌ی علوم، دانشگاه اصفهان، اصفهان، ایران
۳ دانشیار، گروه پاتولوژی، دانشکده‌ی پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران
۴ استادیار، گروه پرتودرمانی، دانشکده‌ی پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران
نویسنده‌ی مسؤول: دکتر منوچهر توسلی
Email: manoochehrt@yahoo.com

www.mui.ac.ir

بر اساس یک سیستم تقسیم‌بندی که توسط Bokhman انجام شد، سرطان رحم بر اساس اتیولوژی و رفتارهای کلینیکی به دو گروه ۱ و ۲ تقسیم می‌شود (۳). انواع سرطان رحم علاوه بر ویژگی‌های مورفولوژیکی و کلینیکی متفاوت تغییرات ژنتیکی متفاوتی نیز دارند. در نوع اول ژن‌هایی مثل PTEN، K-ras، β- catenin و PI3KCA دچار جهش می‌شوند (۴). جهش‌های PI3KCA در ۳۶ درصد سرطان‌های رحم نوع اول مشاهده شده است (۵). در نوع دوم سرطان‌های رحم به طور معمول آنئوپلوییدی و جهش‌های *P53* رخ می‌دهد (۴). فسفاتیدیل اینوزیتول۳-کیناز (PI3K) کینازهای لیپیدی هستند که فرایندهای مختلف سلولی شامل: تکثیر سلولی، تمایز، مهاجرت، متابولیسم انسولین و آپوپتوز را کنترل می‌نماید (۷-۶). PI3K از طریق رسپتورهای تیروزین کینازی، سیتوکین، اینتگرین و رسپتورهای جفت‌شونده با G پروتئین‌ها فعال می‌شود (۹-۸). PI3K فعال شده‌ی فسفاتیدیل اینوزیتول ۴ و ۵ بیس فسفات (PIP_2) را در موقعیت D_3 فسفریله و به فسفاتیدیل اینوزیتول ۳ و ۴ و ۵ تری فسفات (PIP_3) تبدیل می‌کند. (PIP_3) حاصله سپس Akt (پروتئین کیناز B) را فعال می‌کند که با فسفوریلاسیون پروتئین‌های مختلف یک سری از رویدادهای سلولی از جمله فرایندهایی که در رشد و توسعه‌ی توموری دخالت دارند را کنترل می‌نماید (۹-۸، ۶).

خانواده‌ی PI3K در سه گروه اصلی کلاس I و II و III و چندین زیر گروه تقسیم‌بندی می‌شوند. حداقل ۱۲ عضو از این خانواده در ژنوم انسان وجود دارد (۹).

کلاس I تنها گروهی است که PtdIn(4,5)p2 را به PtdIn(3,4,5)p3 تبدیل می‌کند. زیر گروه کلاس I شامل کلاس IA و IB می‌باشد. کلاس IA از طریق رسپتورهای تیروزین کینازی و کلاس IB از طریق رسپتورهای جفت‌شونده با G- پروتئین‌ها یا (G protein Coupled Receptors یا GPCRs) فعال می‌شوند. البته هر دو زیر گروه می‌توانند به Ras نیز متصل و فعال شوند (۶). کلاس IA هترودیمری متشکل از یک زیر واحد کاتالیتیکی ۱۱۰ کیلودالتونی P^{110} و یک زیر واحد تنظیمی ۸۵-۵۰ کیلودالتونی P^{85} است (۹-۸). جهش‌های زیر واحد کاتالیتیکی $P^{110\alpha}$(PIK3CA) در چند نوع از سرطان‌های انسانی شامل: پستان (۱۰)، کلون، معده، مغز، ریه (۱۰)، تخمدان (۱۱)، کبد(۱۲) و رحم گزارش شده است. فراوانی موتاسیون های PIK3CA در سرطان رحم بین ۳۹-۲۴ درصد می‌باشد (۱۴-۱۳، ۵). بیش از ۹۰ درصد جهش‌ها در دمین هلیکالی (اگزون ۹) و دمین کینازی (اگزون ۲۰) PIK3CA قرار دارند (۱۵). این جهش‌ها به طور عمده سبب افزایش فعالیت PI3K می‌شوند و روند تومورزایی را آغاز می‌کنند. به همین جهت جزء اهداف درمانی در مطالعات سرطان قرار گرفته‌اند (۱۵).

روش‌ها

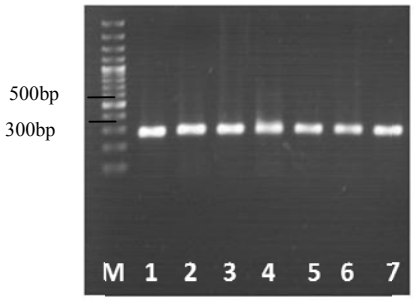
DNA ژنومی از ۵۰ نمونه‌ی تومور تازه‌ی جسم رحم که از اصفهان و انستیتو کانسر ایران در تهران جمع‌آوری شده بود و ۵ نمونه‌ی شاهد منفی شامل نمونه‌ی بافت و خون سالم و ۳ نمونه‌ی شاهد مثبت که جهش‌های آن‌ها ثابت شده بود با روش استاندارد فنل-کلروفرم استخراج شد. به منظور تشخیص جهش‌های PIK3CA واکنش زنجیر پلیمراز (Polymerase chain reaction یا PCR) اگزون‌های ۹ و ۲۰ در حجم نهایی ۲۵ میکرولیتر و ۳۰ سیکل انجام شد. واسرشت شدن اولیه در ۹۴ درجه‌ی

www.mui.ac.ir

سانتی‌گراد به مدت ۳ تا ۵ دقیقه و سپس ۳۰ سیکل PCR به ترتیب با دمای واسرشت شدن ۹۴ درجه‌ی سانتی‌گراد به مدت ۱ دقیقه و دمای اتصال متفاوت برای هر کدام از پرایمرها بین ۴۸ تا ۵۷ درجه‌ی سانتی‌گراد به مدت ۱ دقیقه و دمای تکثیر ۷۲ درجه‌ی سانتی‌گراد به مدت ۱ دقیقه انجام شد و در انتها تکثیر نهایی در دمای ۷۲ درجه‌ی سانتی‌گراد به مدت ۱۰ دقیقه برای تکثیر توالی‌های ناقص در نظر گرفته شد. محصولات PCR توسط الکتروفورز با ژل ۱ درصد آگارز بررسی شدند. PCR حاوی ۲۰۰-۱۰۰ نانوگرم DNA ژنومی ۲۰۰ نانومولار از پرایمرهای پیشرو و پیرو ۰/۲ ماکرومولار dNTP، ۲/۵ میکرولیتر از بافر PCR 1X، ۱/۵ میلی‌مولار $MgCl_2$ و دو واحد آنزیم DNA Smar Taq Polymerase (شرکت سیناژن) در دستگاه ترموسایکلر شرکت Takara انجام شد. توالی پرایمرهای استفاده شده در این PCR در جدول ۱ آورده شده است.

پرایمر های مورد استفاده برای تکثیر اگزون ۹، یک ژن کاذب روی کروموزوم 22q11.2 را نیز تکثیر می‌کردند (۱۶). برای از بین بردن امکان تکثیر این سودوژن یک جفت پرایمر دیگر (9Psu) طراحی شد و دمای اتصال تا حد ممکن بالا برده شد و شرایط تکثیر برای این پرایمرها بهینه شد. سپس با استفاده از یک جفت پرایمر درونی این اگزون تکثیر شد. نمونه‌ای از الکتروفورز ژل آگارز اگزون شماره ی ۹ در شکل ۱ نشان داده شده است.

محصولات PCR به نسبت ۱:۱ با بافر بارگیری SSCP حاوی ۱۲ EDTA میلی‌مولار، بروموفنل بلو ۰/۰۵ درصد ، زایلن سیانول FF ۰/۰۵ درصد، گلیسرول ۰/۰۶ درصد، فرمامید ۳۰ درصد و NaOH ۲۰ میلی‌مولار مخلوط شد. سپس در دمای ۹۷ درجه‌ی سانتی‌گراد به مدت ۵ دقیقه دناتوراسیون انجام شد و به سرعت روی یخ قرار داده شد. ۱۵-۵ میکرولیتر از این مخلوط روی ژل پلی‌اکریل آمید ۱۰ درصد معمولی حاوی گلیسرول بارگیری شد و الکتروفورز در ولتاژ ۲۰۰ به مدت ۲۴ ساعت در دمای ثابت ۴ درجه‌ی سانتی‌گراد در حضور بافر TBE 1X انجام شد. سپس این ژل با روش رنگ‌آمیزی نیترات نقره رنگ‌آمیزی شد. در شکل ۲ نمونه‌ای از ژل رنگ‌آمیزی شده‌ی پلی اکریل نشان داده شده است. در این شکل نمونه‌های



شکل ۱. الکتروفورز ژل آگارز اگزون شماره‌ی ۹ را نشان می‌دهد. (M: DNA مارکر bp ۱۰۰)

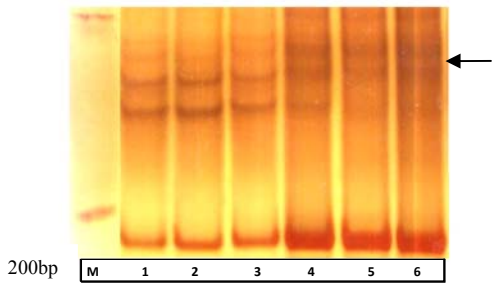
جدول ۱. توالی پرایمرهای استفاده شده برای تکثیر اگزون ۲۰ و ۹ ژن PIK3CA

نام پرایمر		توالی پرایمر
Exon 9 psu	F	5′CTG AAA ATA AAG TCT TGC AAT GAA 3′
	R	5′TGT AAA TTC TGC TTT ATT TAT TCC 3′
Exon 9	F	5′ TCC AGA GGG GAA AAA TAT GAC 3′
	R	5′ TAT GGT AAA AAC ATG CTG AG 3′
Exon 20A	F	5′ AGA CCT GAA GGT ATT AAC ATC 3′
	R	5′ TCG AAT GTA TGC AAT GTC ATC 3′
Exon 20B	F	5′ TGA TGC TTG GCT CTG GAA TG 3′
	R	5′ ATG CTG TTT AAT TGT GTG GAA G 3′

www.mui.ac.ir

شماره‌ی ۴ شاهد مثبت و ۲ شاهد منفی نمونه‌های ۶ و ۵ نمونه‌های بیمار دارای جهش هستند. نمونه‌ی ۳ و ۱ نمونه‌های بیمار فاقد جهش می‌باشند.

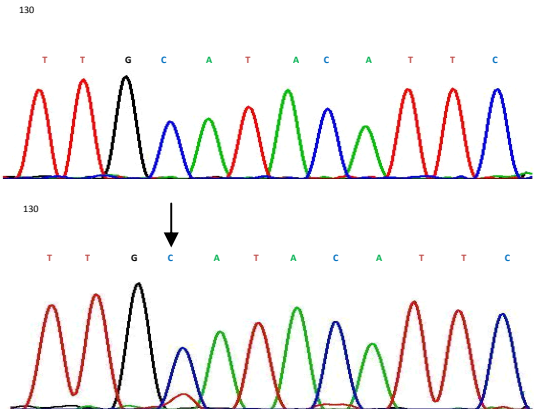
مراحل PCR و SSCP (Single-strand Conformation Polymorphism) برای افزایش دقت و صحت نتایج سه بار تکرار شد. حساسیت SSCP تحت تأثیر طول محصول PCR می‌باشد به طوری که قطعات کوچک‌تر از 300bp برای SSCP مناسب‌تر هستند. به همین دلیل برای اگزون ۲۰ دو جفت پرایمر طراحی شد. به منظور تأیید نتایج تکنیک SSCP و تعیین نوع جهش‌ها تعدادی از نمونه‌ها تعیین توالی شدند. به این منظور نمونه‌های هر اگزون پس از انجام PCR از ژل آگارز خالص‌سازی شدند. برای استخراج و خالص‌سازی DNA، از کیت mi-Gel Extraction Kit شرکت Metabion استفاده شد. ارتباط بین جهش های PIK3CA با درگیری غدد لنفاوی، سن بیمار، مرحله‌ی پیشرفت بیماری و درجه‌ی تومور به وسیله‌ی آزمون χ^2 بررسی شد. بررسی‌های آماری به وسیله‌ی SPSS نسخه‌ی ۱۶ (SPSS version 16, Inc., Chicago, IL) انجام شد.



شکل ۲. بررسی جهش‌های اگزون ۲۰B به وسیله‌ی SSCP: در این شکل نمونه‌های شماره‌ی ۴ شاهد مثبت و ۲ شاهد منفی و نمونه‌های ۶ و ۵ نمونه‌های بیمار دارای جهش هستند. نمونه‌ی ۳ و ۱ نمونه‌های بیمار فاقد جهش می‌باشند. (M: DNA مارکر ۱۰۰ bp)

یافته‌ها

در ۵۰ نمونه تومور جسم رحم بررسی شده در اصفهان و تهران حدود ۴۷ درصد جهش مشاهده شد که ۶۰ درصد در اگزون ۲۰ (دمین کاتالیتیک) و ۴۰ درصد در اگزون ۹ (دمین هلیکالی) رخ دادند. تعیین توالی اگزون ۲۰ جهش (C3059T) (A1020V) را نشان داد. در شکل ۳ نتیجه‌ی تعیین توالی اگزون ۲۰ را مشاهده می‌کنید. در بخش اول تعیین توالی یک نمونه‌ی شاهد منفی و شکل دوم تعیین توالی نمونه‌ی جهش‌دار اگزون ۲۰ را نشان می‌دهد. تعیین توالی اگزون ۹، جهش G1624A (E542K) که یک جهش متداول در این اگزون است و جهش دیگر، G1610A (R537Q) که تا به حال گزارش نشده بود را تأیید کرد. این جهش‌ها در نمونه‌های خون مشاهده نشدند در نتیجه این تغییرات چند شکلی‌های تک نوکلئوتیدی (SNP) نیستند.



شکل ۳ توالی طبیعی و جهش یافته‌ی اگزون ۲۰، جهش باعث تبدیل C به T شده است

در این مطالعه همچنین ارتباط بین جهش های PIK3CA با درگیری غدد لنفاوی، سن بیمار، مرحله ی پیشرفت بیماری و درجه‌ی تومور بررسی شد. در جمعیت مورد مطالعه ارتباط معنی‌داری بین جهش و درجه ی تومور مشاهده شد (OR =۵/۵، P = ۰/۰۳).

www.mui.ac.ir

فراوانی درجه‌ی ۳ (Grade III) و درجه‌ی ۱ و ۲ (Grade I,II) در افراد دارای جهش و فاقد جهش در جدول ۲ آورده شده است، اما ارتباط معنی‌داری بین جهش با درگیری غدد لنفاوی (۰/۱۰۷ = χ^2، P = 74/0)، مرحله‌ی پیشرفت بیماری (۰/۸ = P) و سن بروز بیماری (۰/۱۲ = P) مشاهده نشد.

جدول ۲. فراوانی درجه‌ی ۳ و درجه‌ی ۱ و ۲ در افراد دارای جهش و فاقد جهش

	درجه‌ی ۳	درجه‌ی ۱ و ۲	کل
M+	۷	۱۴	۲۱
M-	۲	۲۲	۲۴
کل	۹	۳۶	۴۵

+M: بیماران دارای جهش در ژن مورد بررسی و -M: بیماران فاقد جهش در ژن

بحث

در این مطالعه جهش‌های PIK3CA در اگزون‌های ۹ و ۲۰ این ژن در سرطان جسم رحم در اصفهان و نمونه‌های دریافتی از انستیتو کانسر ایران در تهران بررسی شد. روش SSCP یک روش غربالگری اولیه برای تشخیص جهش است و در مرحله‌ی بعد برای تأیید جهش‌ها برخی از نمونه‌های مشکوک برای تعیین توالی فرستاده شدند. فراوانی جهش‌های مشاهده شده در سرطان جسم رحم در مطالعات پیشین ۲۴ تا ۳۹ درصد گزارش شده بود. در این مطالعه حدود ۴۷ درصد جهش در این ژن مشاهده شد. تعیین توالی اگزون ۲۰ یک جهش (C3059T) را که پیش از این در مورد سرطان آندومتر گزارش نشده بود و فقط در مورد سرطان روده‌ی بزرگ دیده شده بود را تأیید کرد (www.sanger.ac.uk). این جهش سبب تغییر اسید آمینه آلانین به والین می‌گردد (A1020V). در مطالعه ای که توسط غربی و همکاران در جمعیت اصفهان انجام شد، این جهش در سرطان پستان نیز برای اولین بار گزارش شد (۱۷). این مشاهده می‌تواند نشان دهنده‌ی این مطلب باشد که عامل جهش‌زا در جمعیت مورد مطالعه‌ی ما با سایر جمعیت‌ها متفاوت است. تا به حال در مطالعات قبلی بیش از ۳۶ جهش در ۲۰ اگزون این ژن معرفی شده است. که جهش‌های H1047R یا A3140G جهش متداول اگزون ۲۰ و E545K یا G1633A و G1624A یا E542K جهش‌های متداول اگزون ۹ می‌باشند. تعیین توالی اگزون ۹، جهش G1624A (E542K) را نشان داد که باعث تغییر رمز اسید آمینه‌ی گلوتامیک اسید به لیزین می‌شود. اسید آمینه‌ی گلوتامیک اسید دارای بار منفی و قطبی است، در حالی که لیزین یک اسید آمینه‌ی بازی است. بنابراین می‌تواند بر ساختار پروتئین اثر بگذارد. جهش دیگر در اگزون ۹، G1610A (R537Q) است که تا به حال گزارش نشده است. این جهش باعث تبدیل اسید آمینه‌ی آرژنین به گلوتامین می‌شود. آرژنین یک اسید آمینه‌ی به شدت بازی است در صورتی که گلوتامین خنثی است، بنابراین به نظر می‌رسد این جهش تأثیر زیادی بر روی ساختار پروتئین بگذارد. همچنین در این مطالعه ارتباط معنی داری بین جهش و درجه‌بندی تومور مشاهده شد.

نتایج به دست آمده حاکی از این است که طیف سرطان رحم و نوع جهش در جمعیت مورد مطالعه‌ی ما با سایر جمعیت‌ها متفاوت است و جهش‌هایی مشاهده شد که تاکنون گزارش نشده است و می‌تواند نشان‌دهنده‌ی این مطلب باشد که عامل جهش‌زا در جمعیت مورد مطالعه‌ی ما با سایر جمعیت‌ها متفاوت است پس نیاز به بررسی نمونه‌های بیشتر و انواع دیگر سرطان وجود دارد.

www.mui.ac.ir

References

1. Jemal A, Siegel R, Xu J, Ward E. Cancer statistics, 2010. CA Cancer J Clin 2010; 60(5): 277-300.
2. National register of cancer cases reported. [Online]. 2004. Available from: URL: http://www.ssu.ac.ir/fileadmin/templates/fa/Moavenatha/Moavenat_behdasht/MB_mobarezebimariha/Upload_MB_Mobareze/cancer/1383/National%20Cancer%20Registry_1383.pdf.
3. Bokhman JV. Two pathogenetic types of endometrial carcinoma. Gynecol Oncol 1983; 15(1): 10-7.
4. Hecht JL, Mutter GL. Molecular and pathologic aspects of endometrial carcinogenesis. J Clin Oncol 2006; 24(29): 4783-91.
5. Oda K, Stokoe D, Taketani Y, McCormick F. High frequency of coexistent mutations of PIK3CA and PTEN genes in endometrial carcinoma. Cancer Res 2005; 65(23): 10669-73.
6. Hirsch E, Braccini L, Ciraolo E, Morello F, Perino A. Twice upon a time: PI3K's secret double life exposed. Trends Biochem Sci 2009; 34(5): 244-8.
7. Vivanco I, Sawyers CL. The phosphatidylinositol 3-Kinase AKT pathway in human cancer. Nat Rev Cancer 2002; 2(7): 489-501.
8. Fry MJ. Structure, regulation and function of phosphoinositide 3-kinases. Biochim Biophys Acta 1994; 1226(3): 237-68.
9. Vanhaesebroeck B, Waterfield MD. Signaling by distinct classes of phosphoinositide 3-kinases. Exp Cell Res 1999; 253(1): 239-54.
10. Samuels Y, Wang Z, Bardelli A, Silliman N, Ptak J, Szabo S, et al. High frequency of mutations of the PIK3CA gene in human cancers. Science 2004; 304(5670): 554.
11. Campbell IG, Russell SE, Choong DY, Montgomery KG, Ciavarella ML, Hooi CS, et al. Mutation of the PIK3CA gene in ovarian and breast cancer. Cancer Res 2004; 64(21): 7678-81.
12. Lee S, Choi EJ, Jin C, Kim DH. Activation of PI3K/Akt pathway by PTEN reduction and PIK3CA mRNA amplification contributes to cisplatin resistance in an ovarian cancer cell line. Gynecol Oncol 2005; 97(1): 26-34.
13. Catasus L, Gallardo A, Cuatrecasas M, Prat J. PIK3CA mutations in the kinase domain (exon 20) of uterine endometrial adenocarcinomas are associated with adverse prognostic parameters. Mod Pathol 2008; 21(2): 131-9.
14. Hayes MP, Wang H, Espinal-Witter R, Douglas W, Solomon GJ, Baker SJ, et al. PIK3CA and PTEN mutations in uterine endometrioid carcinoma and complex atypical hyperplasia. Clin Cancer Res 2006; 12(20 Pt 1): 5932-5.
15. Bachman KE, Argani P, Samuels Y, Silliman N, Ptak J, Szabo S, et al. The PIK3CA gene is mutated with high frequency in human breast cancers. Cancer Biol Ther 2004; 3(8): 772-5.
16. Qiu W, Schonleben F, Li X, Ho DJ, Close LG, Manolidis S, et al. PIK3CA mutations in head and neck squamous cell carcinoma. Clin Cancer Res 2006; 12(5): 1441-6.
17. Gharbi S, Faghihi M, Tavassoli M. A novel PIK3CA hotspot mutation in Isfahanian breast cancer patients. Cancer Invest 2011; 29(4): 313-7.

www.mui.ac.ir

Journal of Isfahan Medical School Original Article

Vol 29, No 150, 2nd week, October 2011 Received: 5.6.2011 Accepted: 23.8.2011

Detection of PI3K Gene Mutations in Endometrial Cancer in Iran

Masoumeh Elyasi[1], Manoochehr Tavasoli PhD[2], Mehri Faghihi MD[3], Simin Hemati MD[4]

Abstract

Background: The phosphatidylinositol-3-kinase (PI3K) signaling pathway regulates a variety of biological processes including proliferation, motility, insulin metabolism, and apoptosis. Activated PI3K phosphorylates phosphatidylinositol 4, 5 bisphosphate [PtdIns(4,5)P2] and thus produces phosphatidylinositol 3, 4, 5 triphosphate [PtdIns(3,4,5)P3]. This lipid activates Akt (protein kinase B). The frequency of PIK3 catalytic alpha (PIK3CA) gene mutations in endometrial cancer ranges from 24% to 39%. More than 90% of the mutations in PIK3CA have been localized in the helical (exon 9) and kinase (exon 20) domains.

Methods: In this study, we analyzed the presence of PIK3CA mutations by means of single-strand conformational polymorphism (SSCP) and direct DNA sequencing in a population of Iranian endometrial cancer patients in the city of Isfahan and Tehran Cancer Institute. We also investigated the correlation between PIK3CA mutations and lymph node involvement, age, and disease stage and grade by Pearson's chi-square test.

Findings: Among the 47% PIK3CA mutations in this study, 60% were identified in the kinase domain (exon 20). A novel mutation was found in codon 3059 of exon 20 [C3059T (A1020V)] which has not been reported previously in endometrial cancer. In addition to hotspot mutation of exon 9 [G1624A (E542K)], we also detected a novel mutation [G1610A (R537Q)] in exon 9. We found that PIK3CA mutations are mainly associated with histological grade of tumors (P = 0.03; OR = 5.5). However, we did not observe any significant correlations between PIK3CA mutations and lymph node involvement, stage, or age of patients.

Conclusion: Our results showed that the spectrum of PIK3CA mutations in our population was different. Therefore, further research on a larger number of samples and other types of cancers would be necessary.

Keywords: Endometrial cancer, Mutation, Apoptosis, Phosphatidylinositol-3-kinase.

[1] Student, Department of Biology, School of Sciences, Isfahan University, Isfahan, Iran
[2] Associate Professor, Department of Biology, School of Sciences, Isfahan University, Isfahan, Iran
[3] Associate Professor, Department of Pathology, School of Medicine, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran
[4] Assistant Professor, Department of Radiotherapy, School of Medicine, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran
Corresponding Author: Manoochehr Tavasoli PhD, Email: manoochehrt@yahoo.com