مجله دانشکده پزشکی اصفهان
سال سی و پنجم/شماره‌ی ۴۳۲/هفته‌ی چهارم تیر ماه ۱۳۹۶

تاریخ دریافت: ۱۳۹۵/۱۲/۴
تاریخ پذیرش: ۱۳۹۶/۲/۲۶

مقایسه‌ی جهش ژن CDH1 در بیماران مبتلا به سرطان ارثی منتشره‌ی معده با سرطان اسپورادیک منتشره‌ی معده

عباس مریدنیا[۱]، مجید خیراللهی[۲]، محمدامین طباطبایی‌فر[۳]، مهرداد زینلیان[۴]

مقاله پژوهشی

چکیده

مقدمه: سرطان معده، چهارمین سرطان و دومین علت مرگ ناشی از سرطان در جهان می‌باشد. جهش ژن CDH1، شایع‌ترین علت سرطان ارثی منتشره‌ی معده (Hereditary diffuse gastric cancer یا HDGC) و اسپورادیک منتشره‌ی معده (Sporadic diffuse gastric cancer یا SDGC) می‌باشد. ژن CDH1 کد کننده‌ی E-cadherin می‌باشد. این مطالعه، با هدف مقایسه‌ی تغییرات نوکلئوتیدی و تغییرات تعداد کپی ژن CDH1 در بیماران مبتلا به HDGC و SDGC انجام شد.

روش‌ها: در مطالعه‌ی حاضر، ۴۵ بیمار شامل ۱۷ مورد HDGC و ۲۸ مورد SDGC بر اساس معیارهای هیستوپاتولوژیک و سابقه‌ی خانوادگی انتخاب گردیدند. استخراج DNA از خون محیطی و بافت پارافینه انجام گرفت. تمام ۱۶ اگزون ژن CDH1 با استفاده از روش Polymerase chain reaction (PCR) تکثیر شدند. روش Multiplex ligation-dependent probe amplification (MLPA) بر روی نمونه‌هایی که نتیجه‌ی توالی‌یابی آن‌ها تغییر پاتوژنیکی را نشان نداده بودند، برای شناسایی حذف و اضافه‌ها انجام گردید.

یافته‌ها: جانشینی هم‌معنی L116L و A692A در هر دو نوع ارثی و اسپورادیک بیماری سرطان منتشره‌ی معده وجود دارد و جهش غیر هم‌معنی D777E و حذف‌های c.889delA و c.1177delA فقط در بیماران مبتلا به HDGC وجود دارند. نتایج MLPA در بیماران HDGC یک مورد حذف شدگی در اگزون ۱ ژن CDH1 و در بیماران SDGC یک مورد مضاعف شدگی در اگزون ۹ و یک مورد حذف شدگی در اگزون ۲ نشان داد.

نتیجه‌گیری: نتایج نشان دهنده‌ی وجود جهش‌های مختلف در ژن CDH1 در بیماران مبتلا به HDGC و SDGC می‌باشد که بر اهمیت بررسی جهش‌های ژن CDH1 و به ویژه جهش‌های یافت شده در مطالعه‌ی حاضر در تشخیص بیماری DGC تأکید می‌کند.

واژگان کلیدی: CDH1، سرطان منتشره‌ی معده، ایران

ارجاع: مریدنیا عباس، خیراللهی مجید، طباطبایی‌فر محمدامین، زینلیان مهرداد. **مقایسه‌ی جهش ژن CDH1 در بیماران مبتلا به سرطان ارثی منتشره‌ی معده با سرطان اسپورادیک منتشره‌ی معده.** مجله دانشکده پزشکی اصفهان ۱۳۹۶؛ ۳۵ (۴۳۲): ۶۲۸-۶۲۲

مقدمه

سرطان معده، چهارمین سرطان شایع در جهان با ۹۵۲۰۰۰ مورد جدید و ۷۲۳۰۰۰ مرگ در سال ۲۰۱۲ و دومین علت مرگ در بین همه‌ی سرطان‌ها می‌باشد. سرطان معده، یازدهمین علت از همه‌ی مرگ‌ها و ۱/۸ درصد مرگ‌ها را تا سال ۲۰۳۰ به خود اختصاص می‌دهد (۱). در ایران، سرطان معده دومین علت مرگ ناشی از سرطان و دومین سرطان در مردان با شیوع ۱۴ درصد و چهارمین سرطان در زنان با شیوع ۷ درصد می‌باشد (۲). بیشترین موارد سرطان معده، اسپورادیک هستند و تجمع خانوادگی، حدود ۱۰ درصد از موارد را تشکیل می‌دهد (۳) و الگوی ارثی در ۳-۱ درصد موارد دیده می‌شود (۴).

بر اساس طبقه‌بندی هیستوپاتولوژیکی Lauren، سرطان معده به دو نوع روده‌ای (Intestinal) و منتشره (Diffuse) تقسیم‌بندی می‌شود (۵). سرطان ارثی منتشره‌ی معده (Hereditary diffuse gastric cancer یا HDGC)، یک فرم

۱- گروه ژنتیک و بیولوژی مولکولی، دانشکده‌ی پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران
۲- دانشیار، مرکز تحقیقات بیماری‌های ارثی کودکان، پژوهشکده‌ی پیش‌گیری از بیماری‌های غیر واگیر و گروه ژنتیک و بیولوژی مولکولی، دانشکده‌ی پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران
۳- دانشیار، گروه ژنتیک و بیولوژی مولکولی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران
۴- استادیار، گروه ژنتیک و بیولوژی مولکولی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران
نویسنده‌ی مسؤول: مجید خیراللهی
Email: mkheirollahi@med.mui.ac.ir

اتوزومال غالب از سرطان معده‌ی منتشره (Diffuse gastric cancer یا DGC) با حالت تهاجمی بالا، پیش‌آگهی ضعیف و نفوذ بالا می‌باشد که باعث ضخیم شدن دیواره‌ی معده (Linitis plastica) بدون تشکیل یک توده‌ی مشخص می‌شود. سلول‌های حلقه‌انگشتری مانند (Signet ring cell carcinoma یا SRCC)، شایع‌ترین فرم هیستوپاتولوژیکی سرطان معده‌ی منتشره می‌باشند. جهش ژن CDH1، شایع‌ترین علت ایجاد کننده‌ی HDGC و SDGC است (۶). میزان جهش‌های ژن CDH1 نسبت معکوسی با زمینه‌ی بروز سرطان معده دارد. بنابراین، در کشورهایی با بروز پایین سرطان معده، مانند آمریکای شمالی، انگلیس و کانادا، میزان جهش ۵۱/۶ درصد و در کشورهایی با بروز متوسط مانند آلمان ۲۵ درصد و در مقابل، در کشورهایی با بروز بالا مانند ایتالیا و پرتغال ۲۲/۲ درصد می‌باشد (۷).

جهش‌های ژرم‌لاین تا کنون در ژن‌های کاندیدای CTNNA1، BRCA2، STK11، SDHB، PRSS1، ATM، MSR1 و PALB2 در بیماران مبتلا به HDGC گزارش شده است (۸). علاوه بر این، چندین جهش سوماتیک در ژن‌های LMTK3، RHOA، PIK3CA، MED1، ARID1A و MCTP22 نیز گزارش شده است (۹). بیش از ۸۰ درصد حاملین جهش ژن CDH1 در هر دو جنس، در خطر ابتلا به سرطان معده تا سن ۸۰ سالگی می‌باشند. علاوه بر این، خطر ۶۰ درصد برای ابتلا به سرطان پستان لوبولار (Lobular breast cancer یا LBC) در زنان حامل جهش CDH1 وجود دارد (۱۰).

ژن CDH1 بر روی بازوی بلند کروموزوم ۱۶ قرار دارد و حاوی ۱۶ اگزون می‌باشد که برای پروتئین E-cadherin کد می‌کند (۱۱). E-cadherin، یک گلیکوپروتئین است که دارای سه دمین خارج سلولی، غشاگذر و سیتوپلاسمی می‌باشد که نقش مهمی را در اتصال سلولی و سرکوب تومور ایفا می‌کند (۱۲). نقص در E-cadherin، می‌تواند منجر به تهاجم تومور و گسترش سرطان گردد که در سلول‌های سرطان معده‌ی دارای جهش در ژن CDH1 دیده شده است (۱۳). هیپرمتیلاسیون پروموتر ژن CDH1، شایع‌ترین مکانیسم غیر فعال شدن به عنوان ضربه‌ی دوم در DGC می‌باشد. همچنین، جهش‌های جابه‌جایی ثانویه یا حذف و مضاعف شدگی‌ها با فراوانی کمتر دیده شده‌اند (۷).

اغلب جهش‌های ژرم‌لاین که تاکنون شناخته شده‌اند، جانشینی‌های تک نوکلئوتیدی هستند که منجر به تغییرات غیر هم‌معنی یا حذف و اضافه‌های ایجاد کننده‌ی جهش‌های تغییر چهارچوب می‌شوند (۱۴). حدود ۵ درصد از موارد خانوادگی سرطان معده‌ی منتشره، به دلیل حذف‌های بزرگ می‌باشد (۱۵). بنابراین، تکنیک‌هایی مانند Multiplex ligation-dependent probe amplification (MLPA) و Array comparative genomic hybridization (Array CGH)، می‌تواند برای شناسایی حذف و اضافه‌ها در ژن CDH1 و یا دیگر ژن‌های کاندیدا در DGC به کار رود. تا زمان انجام مطالعه، هیچ جهش Hotspot شناخته شده‌ای در ژن CDH1 گزارش نشده بود. بر اساس پایگاه اطلاعاتی Human gene mutation database (HGMD)، ۱۲۱ جهش برای ژن CDH1 گزارش شده است. در این مطالعه، چندین واریانت جدید و حذف و اضافه در این ژن در بیماران مبتلا به HDGC و SDGC گزارش گردید.

روش‌ها

بیماران و نمونه‌گیری: در این مطالعه، ۴۵ بیمار بر اساس معیارهای هیستوپاتولوژیک و سابقه‌ی خانوادگی انتخاب شدند که ۱۷ مورد آن‌ها مبتلا به HDGC و ۲۸ مورد مبتلا به SDGC بودند. بیماران شامل افراد مبتلای مراجعه کننده به بیمارستان الزهرای (س) اصفهان و مرکز خیریه‌ی حمایت از سرطان آلا در اصفهان طی سال‌های ۹۴-۱۳۸۸ بودند. استخراج DNA از خون محیطی با استفاده از کیت مربوط (GeNet Bio, Korea) صورت گرفت. از بافت‌های پارافینه‌ی برش‌های ۱۰-۵ میکرونی تهیه گردید و سپس، استخراج با استفاده از روش فنل کلروفرم انجام شد. تمام ۱۶ اگزون ژن CDH1 با استفاده از روش PCR (Polymerase change reaction) تکثیر شدند. روش MLPA بر روی نمونه‌هایی که نتیجه‌ی توالی‌یابی آن‌ها هیچ تغییر پاتوژنیکی را نشان نداده بودند، برای شناسایی حذف و اضافه‌های بزرگ انجام گردید.

توالی‌یابی: DNAهای به دست آمده از همه‌ی بیماران، برای توالی‌یابی مورد استفاده قرار گرفتند. DNAها با استفاده از روش PCR تکثیر شدند. تمام ۱۶ اگزون ژن CDH1 به وسیله‌ی پرایمرهای اختصاصی طراحی شده، تکثیر شدند (جدول ۱). همه‌ی محصولات PCR با استفاده از دستگاه توالی‌یابی ABI 3130XL (Applied Biosystems/Life Technologies, Carlsbad, CA, USA) مورد توالی‌یابی قرار گرفتند. توالی‌های به دست آمده، با استفاده از نرم‌افزار Chromas بررسی شدند.

بررسی پاتوژنسیتی واریانت‌ها به صورت In silico: تأثیر واریانت‌های غیر هم‌معنی بر عملکرد پروتئین، با استفاده از نرم‌افزارهای Polyphen2، SIFT، I-Mutant، Mutation taster، Mutation assessor، PROVEAN، ConSurf و PhD-SNP انجام گردید.

بررسی حذف و اضافه‌ها به روش MLPA: نمونه‌هایی که در توالی‌یابی هیچ جهش نقطه‌ای پاتوژنیکی از خود نشان نداده بودند، برای بررسی حذف و اضافه‌ها با استفاده از کیت مربوط به نام SALSA P083-C2 CDH1 MLPA kit (MRC-Holland, Amsterdam, Netherlands) مورد ارزیابی قرار گرفتند.

جدول ۱. پرایمرهای ژن‌های CDH1 و CTNNA1

CDH1 F1	GTGAACCCTCAGCCAATCAG
CDH1 R1	GACGACGGGAGAGGAAGG
CDH1 F2	GGTTTCGGTGAGCAGGAG
CDH1 R2	AAGGGGTGTCGTTTGAGC
CDH1 F3	TGGAGAAGGAATGCTCTTGT
CDH1 R3	GCTGAGAAACCTGGATTAGA
CDH1 F4	GTCTGGCTAGGTTGGACTG
CDH1 R4	TCCCTTTCTCTCCTTGGTAC
CDH1 F5	CTGGTTCAGGTAGAGAAAGAAGT
CDH1 R5	AAGCTCCTCATGTGTTCAGAG
CDH1 F6	GCTCAAGTCACCCTCACT
CDH1 R6	GCATATAACACAACAATGGCT
CDH1 F7	TCATCTCCTTGAACTCTTCCA
CDH1 R7	CTTAGACCATCACTGTATTAACTG
CDH1 F8	GGTTCCGTGCCTAGAAGAC
CDH1 R8	ACTTCGCCCATGAGCAGT
CDH1 F9	AATGACACATCTCTTTGCTCTG
CDH1 R9	CACTACAATCTGGGAAAGTCAC
CDH1 F10	TGAGCAGATTTGAGAAGCCA
CDH1 R10	GAACAGGTGAAAGGAGCACAG
CDH1 F11	CATGTTGTTTGCTGGTCCT
CDH1 R11	CCTGACTTTACCACTACACATCT
CDH1 F12	TGGTCTGGTGGAAGGCAAT
CDH1 R12	TTGAAAGGTGGGGATCTGG
CDH1 F13	GCTCTGCTCTCTTCACTCG
CDH1 R13	AGTCTCTTTCCCACATCAGC
CDH1 F14	TCTCAACACTTGCTCTGTCTC
CDH1 R14	CTGTTTCAAATGCCTACCTC
CDH1 F15	AGATCATACAGTTGGCAGTGAA
CDH1 R15	CAGGCAAGCTGAAAACATAGT
CDH1 F16	GTGTGCCCTTCCTTTCACTA
CDH1 R16	CATCACCACCATGTAAAGAGTG
CTNNA1 F2	GCTTTCCTGATGCAAAAGTCC
CTNNA1 R2	GCAGCAGCGTTCTCAAGG

این روش، طبق دستورالعمل کارخانه‌ی سازنده‌ی کیت انجام گرفت. حذف و اضافه‌ها به صورت Probe ratio (PR) نشان داده شدند. PR کمتر از ۰/۷ نشان دهنده‌ی حذف و PR بزرگ‌تر از ۱/۳، نشان دهنده‌ی مضاعف شدگی می‌باشد.

یافته‌ها

ویژگی‌های پاتولوژیکی و بالینی بیماران: میانگین سنی هنگام تشخیص در بیماران مبتلا به HDGC ۴۵/۵ و در بیماران SDGC ۵۴/۵ سال بود. موارد HDGC شامل ۷ مرد و ۱۰ زن و موارد SDGC شامل ۲۰ مرد و ۸ زن بودند. ۱۷/۶ درصد نمونه‌های HDGC در مراحل I و II و ۸۲/۴ درصد در مراحل III و IV بودند. در نمونه‌های SDGC ۲۱/۴ درصد موارد در مراحل I و II و ۶۷/۹ درصد موارد در مراحل III و IV بودند که در ۱۰/۷ درصد آن‌ها، مراحل بیماری نامشخص بود (جدول ۲).

توالی‌یابی: محصولات PCR تکثیر شده در بیماران HDGC، ۷ واریانت و در SDGC، ۳ واریانت اگزونی از خود نشان دادند. واریانت‌های شناسایی شده در HDGC شامل c.348G>A (L116L)، c.181A>G (T61A)، c.2076T>C (A692A)، c.2292C>T (D764D)، c.2331C>G (D777E)، c.889delA و c.1177delA و در بیماران SDGC شامل c.348G>A (L116L)، c.2076T>C (A692A) و c.2253C>T (N751N) بودند. مقایسه‌ی تغییرات اگزونی در بیماران مبتلا به HDGC و SDGC نشان داد که جانشینی هم‌معنی L116L و A692A در هر دو نوع HDGC و SDGC بیماری سرطان معده‌ی منتشره وجود دارد (جدول ۳).

پاتوژنسیتی واریانت‌ها: با استفاده از نرم‌افزارهای Polyphen2، SIFT، Mutation taster، Mutation assessor، PROVEAN، ConSurf و PhD-SNP، پیش‌بینی شد که جابه‌جایی آمینواسید ۷۷۷ که باعث تبدیل آسپارتیک اسید به گلوتامیک اسید (p.777D>E) در موقعیت c.2331C>G می‌شود، می‌تواند تأثیر پاتوژنیکی بر عملکرد پروتئین E-cadherin داشته باشد.

جدول ۲. مقایسه‌ی معیارهای اپیدمیولوژیک و پاتولوژیک در بیماران مبتلا به Hereditary diffuse gastric cancer (HDGC) و Sporadic diffuse gastric cancer (SDGC)

	جنس		میانگین سن (سال)	متوسط سن در مردان (سال)	متوسط سن در زنان (سال)	مراحل		هیستوپاتولوژی	
	مرد	زن				III, IV	I, II	SRCC	Poorly differentiated
HDGC	۷	۱۰	۴۵/۵	۴۹/۶	۴۲/۴	٪۸۲	٪۱۸	٪۷۶/۵	٪۲۳/۵
SDGC	۲۰	۸	۵۴/۵	۵۲/۸۵	۵۸/۷۵	٪۶۷/۹	٪۲۱/۴	٪۷۵	٪۲۵

HDGC: Hereditary diffuse gastric cancer; SDGC: Sporadic diffuse gastric cancer; SRCC: Signet ring cell carcinoma

جدول ۳. مقایسه تغییرات اگزونی در بیماران مبتلا به Hereditary diffuse gastric cancer (HDGC) و Sporadic diffuse gastric cancer (SDGC)

تنوع تغییر ایجاد شده	نوع سرطان معده	
	HDGC	SDGC
Amino acid substitution	L116L	L116L
	T61A	N751N
	A692A	A692A
	D764D	–
	D777E	–
Deletion	c. 889delA	–
	c.1177delA	–

HDGC: Hereditary diffuse gastric cancer; SDGC: Sporadic diffuse gastric cancer

نتایج MLPA در مرحله‌ی بعد، نمونه‌هایی که در ژن CDH1 و CTNNA1 آن‌ها هیچ واریانت پاتوژنیکی دیده نشده بود، برای بررسی حذف و مضاعف شدگی با روش MLPA، مورد بررسی قرار گرفتند. در بیماران HDGC، یک مورد حذف شدگی در اگزون ۱ ژن CDH1 دو بیمار مختلف یافت شد و در بیماران SDGC یک مورد مضاعف شدگی در اگزون ۹ و یک مورد حذف شدگی در اگزون ۲ ژن CDH1 در دو بیمار مختلف یافت شد (جدول ۳).

بحث

بیشتر موارد سرطان معده، از نوع اسپورادیک می‌باشند و تنها در ۱۰ درصد موارد تجمع خانوادگی دیده می‌شود. بنابراین، موارد ارثی سرطان معده‌ی منتشره، تعداد کمی از موارد را تشکیل می‌دهد (۳). بر اساس معیارهای تشخیصی سرطان معده توسط International Gastric Cancer Linkage Consortium (IGCLC) حدود ۵۰-۱۵ درصد افراد مبتلا به HDGC جهش ژرم‌لاین در ژن CDH1 دارند (۱۶). میزان جهش‌های ژن CDH1 در مبتلایان به DGC تا سال ۲۰۱۰، ۵۰-۲۵ درصد گزارش شده بود (۱۴)، اما با استفاده از معیارهای تشخیصی اصلاح شده، این میزان به حدود ۱۸-۱۰ درصد در کشورهای با بروز پایین سرطان معده کاهش پیدا کرده است (۱۶). در مطالعه‌ی حاضر، چندین جهش ژرم‌لاین و سوماتیک در بیمارن HDGC و SDGC گزارش گردید. بعضی از این واریانت‌ها در مطالعات گذشته گزارش شده بودند که شامل c.2076T>C (A692A) (۱۷)، c.2292C>T (D764D) (۱۸) و c.2439+52G>A (۱۹) می‌باشند. دیگر تغییرات یافته شده در این مطالعه، جدید می‌باشند.

Corso و همکاران، جهش‌هایی در دو بیمار ایتالیایی مبتلا به DGC گزارش کردند که یکی از این جهش‌ها به صورت غیر هم‌معنی (p.Arg224Cys) و دیگری جانشینی C>A در موقعیت ۶۳- بود. همچنین، ۵ مورد از مبتلایان در مراحل I و II و ۱۵ مورد از ۲۱ فرد مبتلا، در مراحل III و IV بودند (۲۰). تا زمان اجرای مطالعه، تنها یک مطالعه جهش‌های ژن CDH1 را در یک خانواده‌ی ایرانی مبتلا به HDGC بررسی کرده است که جهش خاتمه‌ی کدون G 758 stop در این مطالعه گزارش شد (۲۱).

در این مطالعه، چندین جانشینی تک آمینواسیدی و حذف و اضافه‌های بزرگ پیدا شد که در بیماران HDGC در اگزون‌های ۱، ۳، ۷، ۹، ۱۳، ۱۴ و ۱۵ و در بیماران SDGC در اگزون‌های ۳، ۱۳ و ۱۴ قرار داشتند. با استفاده از نرم‌افزارهای بیوانفورماتیک، پیش‌بینی شد که جانشینی p.777D>E واقع در اگزون ۱۵، تأثیر منفی بر عملکرد پروتئین E-cadherin می‌گذارد. اگزون ۱ کد کننده‌ی دمین سیگنال پپتید و اگزون ۳ کد کننده‌ی قسمت پروپپتید پروتئین E-cadherin می‌باشد. دمین سیگنال پپتید، برای ورود پروتئین به شبکه‌ی اندوپلاسمیک ضروری است. اگزون‌های ۳، ۹ و ۱۳ ژن CDH1، کد کننده‌ی دمین خارج سلولی E-cadherin می‌باشند که این دمین، برای اتصال سلولی و جلوگیری از تهاجم تومور لازم می‌باشد. اگزون‌های ۱۴ و ۱۵ این ژن، کد کننده‌ی دمین سیتوپلاسمیک E-cadherin می‌باشند. دمین سیتوپلاسمیک، به بتاکتنین متصل می‌شود و نقش مهمی در خاموش کردن این انکوژن دارد (۲۱). حدود ۵ درصد جهش‌های ژن CDH1 به صورت حذف‌های بزرگ می‌باشند (۱۵). در مطالعه‌ی حاضر، یک حذف بزرگ در ژن CDH1 در مبتلایان به HDGC و یک حذف و یک مضاعف شدگی در مبتلایان SDGC یافت شد. Yamada و همکاران، چندین حذف بزرگ در اگزون‌های ۱، ۲، ۱۴، ۱۵ و ۱۶ ژن CDH1 را گزارش کردند (۱۵). در مطالعات دیگری حذف‌های بزرگ در اگزون‌های ۷، ۸ و ۱۱ ژن CDH1 گزارش گردید (۲۲). ناقلین بدون علامت جهش ژرم‌لاین ژن CDH1 در خطر بالایی برای ابتلا به سرطان معده می‌باشند. حاملین جهش‌های ژن CDH1 همچنین در خطر ابتلا به سرطان LBC می‌باشند (۸). از طرفی، هیچ روش غربالگری قابل اعتمادی برای تشخیص ناقلین جهش وجود ندارد. بنابراین، برداشت کامل معده به صورت پروفیلاکتیک برای حاملین جهش ژن CDH1 توصیه می‌گردد.

بر اساس نتایج این مطالعه، میانگین سنی در بیماران مبتلا به HDGC، ۴۵/۵ سال بود. در ۱۱ بیمار از ۱۷ مورد (۶۴/۷ درصد)، جهش در ژن CDH1 یافت شد و در ۶ نمونه‌ی دیگر، هیچ جهشی دیده نشد و اغلب مبتلایان در مراحل پیشرفته‌ی بیماری قرار داشتند. میانگین سنی در بیماران مبتلا به SDGC، ۵۴/۵ سال بود و در ۴ بیمار از ۲۸ مورد (۱۴/۲ درصد)، جهش در ژن CDH1 وجود داشت و در ۲۴ نمونه‌ی دیگر، هیچ جهشی دیده نشد و اغلب مبتلایان در مراحل پیشرفته‌ی بیماری قرار داشتند. مقایسه‌ی تغییرات اگزونی در بیماران

مبتلا به HDGC و SDGC نشان داد که جانشینی هم‌معنی L116L و A692A در هر دو نوع ارثی و اسپورادیک بیماری سرطان منتشره‌ی معده وجود دارد و جهش غیر هم‌معنی D777E و حذف‌های c.889delA و c.1177delA تنها در بیماران مبتلا به HDGC وجود دارند (جدول ۳).

نتایج MLPA در بیماران HDGC یک مورد حذف شدگی در اگزون ۱ ژن CDH1 در دو بیمار مختلف و در بیماران SDGC یک مورد مضاعف شدگی در اگزون ۹ و یک مورد حذف شدگی در اگزون ۲ ژن CDH1 در دو بیمار مختلف نشان داد. این نتایج، نشان دهنده‌ی وجود جهش‌های مختلف در ژن CDH1 در بیماران مبتلا به HDGC و SDGC می‌باشد که بر اهمیت کلیدی بررسی جهش‌های ژن CDH1 و به ویژه جهش‌های یافت شده در مطالعه‌ی حاضر در تشخیص بیماری DGC در افراد مشکوک به HDGC و SDGC و اهمیت مشاوره‌ی ژنتیک در آن‌ها تأکید می‌کند. همچنین، یافته‌های این مطالعه، بر پیشرفت در آزمایش‌های مولکولی و ژنتیکی به روش‌های PCR، MLPA و روش‌های با قدرت توالی‌یابی بالا مانند Whole exome sequencing (HES) و Whole genome sequencing (HGS) در تشخیص اولیه برای جلوگیری از اثرات بالقوه کشنده‌ی سرطان معده‌ی منتشره در افراد با خطر بالا تأکید می‌کند.

تشکر و قدردانی

این مقاله، برگرفته از طرح تصویب شده در دانشگاه علوم پزشکی اصفهان به شماره‌ی طرح ۳۹۴۴۷۹ می‌باشد. بدین وسیله، از این دانشگاه جهت تأمین هزینه‌ی اجرای این مطالعه قدردانی می‌گردد.

References

1. Mehrabani D, Hosseini SV, Rezaianzadeh A, Amini M, Mehrabani G, Tarrahi MJ. Prevalence of stomach cancer in Shiraz, Southern Iran. J Res Med Sci 2013; 18(4): 335-7.
2. Almasi Z, Rafiemanesh H, Salehiniya H. Epidemiology characteristics and trends of incidence and morphology of stomach cancer in Iran. Asian Pac J Cancer Prev 2015; 16(7): 2757-61.
3. Henson DE, Dittus C, Younes M, Nguyen H, Albores-Saavedra J. Differential trends in the intestinal and diffuse types of gastric carcinoma in the United States, 1973-2000: Increase in the signet ring cell type. Arch Pathol Lab Med 2004; 128(7): 765-70.
4. Palli D, Galli M, Caporaso NE, Cipriani F, Decarli A, Saieva C, et al. Family history and risk of stomach cancer in Italy. Cancer Epidemiol Biomarkers Prev 1994; 3(1): 15-8.
5. Donner I, Kiviluoto T, Ristimaki A, Aaltonen LA, Vahteristo P. Exome sequencing reveals three novel candidate predisposition genes for diffuse gastric cancer. Fam Cancer 2015; 14(2): 241-6.
6. Worthley DL, Phillips KD, Wayte N, Schrader KA, Healey S, Kaurah P, et al. Gastric adenocarcinoma and proximal polyposis of the stomach (GAPPS): A new autosomal dominant syndrome. Gut 2012; 61(5): 774-9.
7. Pinheiro H, Oliveira C, Seruca R, Carneiro F. Hereditary diffuse gastric cancer - pathophysiology and clinical management. Best Pract Res Clin Gastroenterol 2014; 28(6): 1055-68.
8. Hansford S, Kaurah P, Li-Chang H, Woo M, Senz J, Pinheiro H, et al. Hereditary diffuse gastric cancer syndrome: CDH1 mutations and beyond. JAMA Oncol 2015; 1(1): 23-32.
9. Majewski IJ, Kluijt I, Cats A, Scerri TS, de JD, Kluin RJ, et al. An alpha-E-catenin (CTNNA1) mutation in hereditary diffuse gastric cancer. J Pathol 2013; 229(4): 621-9.
10. Davis PA, Sano T. The difference in gastric cancer between Japan, USA and Europe: what are the facts? what are the suggestions? Crit Rev Oncol Hematol 2001; 40(1): 77-94.
11. Richards FM, McKee SA, Rajpar MH, Cole TR, Evans DG, Jankowski JA, et al. Germline E-cadherin gene (CDH1) mutations predispose to familial gastric cancer and colorectal cancer. Hum Mol Genet 1999; 8(4): 607-10.
12. Guilford PJ, Hopkins JB, Grady WM, Markowitz SD, Willis J, Lynch H, et al. E-cadherin germline mutations define an inherited cancer syndrome dominated by diffuse gastric cancer. Hum Mutat 1999; 14(3): 249-55.
13. Guilford P, Hopkins J, Harraway J, McLeod M, McLeod N, Harawira P, et al. E-cadherin germline mutations in familial gastric cancer. Nature 1998; 392(6674): 402-5.
14. Kaurah P, MacMillan A, Boyd N, Senz J, De LA, Chun N, et al. Founder and recurrent CDH1 mutations in families with hereditary diffuse gastric cancer. JAMA 2007; 297(21): 2360-72.
15. Yamada M, Fukagawa T, Nakajima T, Asada K, Sekine S, Yamashita S, et al. Hereditary diffuse gastric cancer in a Japanese family with a large deletion involving CDH1. Gastric Cancer 2014; 17(4): 750-6.
16. van der Post RS, Vogelaar IP, Carneiro F, Guilford P, Huntsman D, Hoogerbrugge N, et al. Hereditary diffuse gastric cancer: updated clinical guidelines with an emphasis on germline CDH1 mutation carriers. J Med Genet 2015; 52(6): 361-74.
17. Chu CM, Chen CJ, Chan DC, Wu HS, Liu YC, Shen CY, et al. CDH1 polymorphisms and haplotypes in sporadic diffuse and intestinal gastric cancer: a case-control study based on direct sequencing analysis. World J Surg Oncol 2014; 12: 80.
18. Oliveira C, Bordin MC, Grehan N, Huntsman D, Suriano G, Machado JC, et al. Screening E-cadherin in gastric cancer families reveals germline mutations only in hereditary diffuse gastric cancer kindred.

Hum Mutat 2002; 19(5): 510-7.
19. Jacobs G, Hellmig S, Huse K, Titz A, Franke A, Kwiatkowski R, et al. Polymorphisms in the 3'-untranslated region of the CDH1 gene are a risk factor for primary gastric diffuse large B-cell lymphoma. Haematologica 2011; 96(7): 987-95.
20. Corso G, Pedrazzani C, Pinheiro H, Fernandes E, Marrelli D, Rinnovati A, et al. E-cadherin genetic screening and clinico-pathologic characteristics of early onset gastric cancer. Eur J Cancer 2011; 47(4): 631-9.
21. Ghaffari SR, Rafati M, Sabokbar T, Dastan J. A novel truncating mutation in the E-cadherin gene in the first Iranian family with hereditary diffuse gastric cancer. Eur J Surg Oncol 2010; 36(6): 559-62.
22. Sugimoto S, Yamada H, Takahashi M, Morohoshi Y, Yamaguchi N, Tsunoda Y, et al. Early-onset diffuse gastric cancer associated with a de novo large genomic deletion of CDH1 gene. Gastric Cancer 2014; 17(4): 745-9.

Journal of Isfahan Medical School

Vol. 35, No. 432, 4th Week, July 2017

Received: 22.02.2017

Accepted: 16.05.2017

Comparative Study on Mutations in CDH1 Gene in Iranian Patients with Hereditary Diffuse Gastric Cancer (HDGC) and Sporadic Diffuse Gastric Cancer (SDGC)

Abbas Moridnia[1], Majid Kheirollahi[2], Mohammad Amin Tabatabaeifar[3], Mehrdad Zeinalian[4]

Original Article

Abstract

Background: Gastric cancer (GC) is the fourth common cancer worldwide and the second cause of mortality among all cancers. Mutations in the CDH1 gene are the most common cause of hereditary diffuse gastric cancer (HDGC) and sporadic diffuse gastric cancer (SDGC). CDH1 gene encode for E-cadherin protein. We compared the nucleotide alterations and copy number variations in CDH1 gene between Iranian patients with HDGC and SDGC.

Methods: We evaluated 45 patients including 17 cases with HDGC and 28 cases with SDGC identified according to the histopathological criteria and familial history. DNA extraction was obtained from peripheral blood and formalin-fixed paraffin-embedded (FFPE) tissues. The DNA sequencing was completed using polymerase chain reaction (PCR) amplification of 16 exons of the CDH1 gene. Multiplex ligation-dependent probe amplification (MLPA) method was accomplished on samples with no pathogenic variants in sequencing.

Findings: Synonymous substitution of L116L and A692A was detected in patients with HDGC and SDGC; but non-synonymous substitution of D777E, c.889delA, and c.1177delA deletions only detected in patients with HDGC. MLPA results revealed one deletion in exon 1 of CDH1 gene in patients with HDGC and one deletion in exon 2, and one duplication in exon 9 of CDH1 gene in patients with SDGC.

Conclusion: According to the results, different variants in CDH1 gene was presented in patients with HDGC and SDGC that emphasis the survey of CDH1 variants and especially detected variants in this study in the diagnosis of diffuse gastric cancer disease.

Keywords: CDH1, Diffuse gastric cancer, Iran

Citation: Moridnia A, Kheirollahi M, Tabatabaeifar MA, Zeinalian M. **Comparative Study on Mutations in CDH1 Gene in Iranian Patients with Hereditary Diffuse Gastric Cancer (HDGC) and Sporadic Diffuse Gastric Cancer (SDGC).** J Isfahan Med Sch 2017; 35(432): 622-8.

1- Department of Genetics and Molecular Biology, School of Medicine, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran
2- Associate Professor, Inherited Diseases Research Center, Research Institute for Primordial Prevention of Non-Communicable Disease AND Department of Genetics and Molecular Biology, School of Medicine, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran
3- Associate Professor, Department of Genetics and Molecular Biology, School of Medicine, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran
4- Assistant Professor, Department of Genetics and Molecular Biology, School of Medicine, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran
Corresponding Author: Majid Kheirollahi, Email: mkheirollahi@med.mui.ac.ir