مجله دانشکده پزشکی اصفهان
سال سی و دوم/شماره ۳۱۷/هفته دوم اسفند ماه ۱۳۹۳

تاریخ دریافت: ۱۳۹۳/۸/۱۱
تاریخ پذیرش: ۱۳۹۳/۱۱/۵

بررسی بیان ژن ESR1 در نمونه‌های بلوک پارافینه‌ی زنان مبتلا به سرطان پستان

مریم قنبریان علویجه[۱]، دکتر الهام مسلمی[۲]، امیر ایزدی[۳]

مقاله پژوهشی

چکیده

مقدمه: سرطان پستان شایع‌ترین تومور بدخیم و سرطان منجر به مرگ در زنان می‌باشد. برخی نشانگرهای زیستی به عنوان عوامل تخمین پاسخ‌دهی به درمان کاربرد دارند. مثال واضح و رایج در این مورد، گیرنده‌ی استروژن است و ارتباط معنی‌داری بین حضور گیرنده (ER+ یا Estrogen receptor) با احتمال ابتلا به سرطان پستان وجود دارد. هدف از این مطالعه، اندازه‌گیری بیان گیرنده‌ی استروژن α در زنان مبتلا به سرطان پستان بود.

روش‌ها: در این مطالعه، تعداد ۲۰ نمونه‌ی بافت پارافینه از افراد مبتلا به سرطان و ۱۰ نمونه‌ی سالم جمع‌آوری شد. پس از پارافین‌زدایی، استخراج RNA با محلول RNX Plus انجام گردید. cDNA (complementary DNA) با روش رونویسی معکوس به وسیله‌ی آنزیم M-MuLV (Moloney murine leukemia virus) سنتز شد. بیان ژن با روش Real time PCR (Real-time polymerase chain reaction) نسبی سنجیده شد و ژن گلیسر آلدهید فسفات دهیدروژناز (GAPDH یا Glyceraldehyde ۳-phosphate dehydrogenase) نیز به عنوان شاهد داخلی استفاده گردید.

یافته‌ها: با مقایسه‌ی بیان ژن گیرنده‌ی استروژن α در بافت‌های سرطانی نسبت به نمونه‌های سالم، افزایش بیان در تمام نمونه‌های سرطانی بیشتر دیده شد. نتایج نشان داد که با افزایش مرحله‌ی بیماری، میزان بیان گیرنده‌ی استروژن α افزایش می‌یابد ($P < ۰/۰۰۰۱$).

نتیجه‌گیری: میزان بیان ژن گیرنده‌ی استروژن α در نمونه‌های سرطانی به طور قابل توجهی افزایش می‌یابد. بنابراین، اندازه‌گیری بیان این ژن، می‌تواند به عنوان عامل مؤثر در تشخیص و پی‌گیری پاسخ‌دهی به درمان به کار رود.

واژگان کلیدی: سرطان پستان، گیرنده‌ی استروژن α، Real-time polymerase chain reaction

ارجاع: قنبریان علویجه مریم، مسلمی الهام، ایزدی امیر. **بررسی بیان ژن ESR1 در نمونه‌های بلوک پارافینه‌ی زنان مبتلا به سرطان پستان.** مجله دانشکده پزشکی اصفهان ۱۳۹۳؛ ۳۲ (۳۱۷): ۲۳۳۲-۲۳۲۴

مقدمه

سرطان پستان پس از سرطان ریه، دومین علت مرگ و میر ناشی از سرطان در زنان و پس از سرطان غیر ملانومی پوست، شایع‌ترین سرطان در زنان است. بر اساس آمار سازمان بهداشت جهانی، هر سال بیش از ۱/۲ میلیون بیمار مبتلا به سرطان پستان تشخیص داده می‌شوند و بیش از ۵۰۰ هزار نفر در اثر این بیماری فوت می‌کنند (۱).

در ایران نیز سرطان پستان عامل ۲۱/۴ درصد از کل بدخیمی‌ها و شایع‌ترین سرطان در زنان است (۲). زنان ایرانی در مقایسه با کشورهای توسعه یافته، حداقل یک دهه زودتر دچار این بیماری می‌شوند؛ که

۱- کارشناس ارشد، گروه زیست‌شناسی، دانشکده‌ی علوم پایه، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد تهران شرق، تهران، ایران
۲- استادیار، گروه زیست‌شناسی، دانشکده‌ی علوم پایه، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد تهران شرق، تهران، ایران
۳- کارشناس ارشد، باشگاه پژوهشگران جوان و نخبگان، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد تهران شرق، تهران، ایران
نویسنده‌ی مسؤول: مریم قنبریان علویجه
Email: mghanbaryan@yahoo.com

این مسأله علاوه بر شیوع بالای این سرطان در ایـران، بر اهمیت این بیماری می‌افزاید (۳).

سرطان پستان یک بیماری به شدت ناهمگن است که در اثر تأثیر متقابل عوامل خطر وراثتـی و محیطـی ایجاد می‌شـود و بـه تجمـع پـیش‌رونـده‌ی تغییـرات ژنتیک و اپی‌ژنتیک در سلول‌های سرطان پستان منجـر می‌شود (۴).

ژن‌های دخیل در کنترل چرخه‌ی سلولی، مسـیرهای انتقال پیام سلولی و هورمون‌هـای اسـتروئیدی بـا خطـر ابتلا به سرطان پستان ارتباط دارند (۶-۵).

هورمون‌های تخمدانی بـه ویـژه اسـتروژن، نقـش زیـادی در ایجـاد و پیشـرفت سـرطان پسـتان بـازی می‌کنند. سن اولین قائدگی، سـن یائسـگی و سـن در اولین حاملگی با دوره‌ی کامل، سه عامل خطر مـرتبط با تغییرات میزان ترشح استروژن می‌باشند (۷).

طی هـر دوره‌ی قائـدگی، اسـتروژن آزاد شـده از تخمدان وارد گردش خون می‌شـود و بـه بافـت‌هـای دارای گیرنده‌ی استروژن، مانند پستان و رحم، متصـل می‌شود. استروژن با اتصـال بـه گیرنـده‌ی خـود وارد هسته‌ی سلول می‌شود و بـا تـأثیر روی مرحلـه‌ی G۱ چرخه‌ی سلولی، سلول را وادار به تقسیم مـی‌کنـد. از آن جا کـه اسـتروژن باعـث تحریـک تقسـیم سـلولی می‌شود، باعث افزایش شانس اشتباه حـین تقسـیمات متعدد DNA و افزایش امکان جهش می‌گردد (۸).

گیرنـده‌ی اسـتروژن بـه دو شـکل α و β دیـده می‌شود که نـوع α (ESR۱ یـا Estrogen receptor۱) برای رشد مجاری پستان طـی دوره‌ی بلـوغ ضـروری است (۱۰-۹). میزان مواجهه با استروژن، عامل خطـر پذیرفته شده‌ای برای ایجاد سرطان پسـتان ER مثبـت می‌باشد. استروژن یک هورمون استروئیدی اسـت کـه از طریق فعال کردن ER-α، اثر تکثیر کنندگی شدیدی بر روی اپیتلیـوم پسـتان طبیعـی انسـان دارد. اپیتلیـوم پستان طبیعی یک گیرنده‌ی هورمونی هسته‌ای معمول دارد. ER-α در ۷۰ درصد موارد سرطان پستان، بـیش از حد بیان می‌شود. امروزه ER-α یکـی از مـؤثرترین اهـداف بـرای درمـان و پیشـگیری سـرطان پسـتان محسـوب مـی‌شـود و آنتـی‌اسـتروژن‌هـا جزیـی از رژیم‌های درمانی توصیه شـده بـرای تـوده‌هـای بیـان کننده‌ی ER-α هستند (۱۲-۱۱).

بنابراین، هدف از این مطالعه بررسـی میـزان بیـان ژن گیرنده‌ی استروژن α (ESR۱) با اسـتفاده از روش (Real time polymerase chain reaction) Real time PCR در سرطان پستان و بررسـی ارتبـاط آن با پیشرفت بیماری بود.

روش‌ها

بـرای انجـام ایـن مطالعـه در سـال ۱۳۹۱، ۲۰ بلـوک پارافینه‌ی مربوط به افراد مبـتلا بـه سـرطان پسـتان و ۱۰ بلوک مربوط به افراد سالم جمع‌آوری گردید.

اسـتخراج RNA: جهـت اسـتخراج RNA، ابتـدا تعداد ۶-۵ برش ۱۰ µ از هر کـدام از نمونـه‌هـا تهیـه شد. به منظور پارافین‌زدایـی پـس از افـزودن گزیلـوز (Merck، آلمان) در ۵۶ °C انکوبه گردید. در مرحله‌ی بعد، حـذف گزیلـوز بـا افـزودن اتـانول مطلـق سـرد (Merck، آلمان) انجام شد. برای پارافین‌زدایی کامـل، این مراحل دو بار تکرار گردید.

هضم بافـت: بـرای انجـام هضـم بافـت، ۱۰۰ µl پروتئاز بافر (سیناژن، ایران) و سپس ۲۰ µl پروتئیناز k (سیناژن، ایران) به لوله افزوده شد. سپس به مدت ۱۵ دقیقه در ۵۶ °C و ۱۵ دقیقه در ۸۵ °C انکوبه گردید.

استخراج RNA: برای استخراج RNA، ۵۰۰ µl RNX Plus (سیناژن، ایران) به لوله‌ی حاوی نمونه افزوده شد. در مرحله‌ی بعد، ۲۰۰ µl کلروفرم (Merck، آلمان) به لوله اضافه شد. سپس به مدت ۱۵ دقیقه در ۱۲۰۰۰ rpm سانتریفیوژ گردید. بخش آبی به لوله‌ی جدید منتقل و برابر حجم آن، ایزوپروپانول سرد (Merck، آلمان) اضافه گردید. لوله به مدت ۱ ساعت در ۲۰ ºC- انکوبه، سپس به مدت ۱۵ دقیقه در ۱۲۰۰۰ rpm سانتریفیوژ و مایع رویی تخلیه گردید. در مرحله‌ی بعد، ۱۰۰۰ µl اتانول سرد ۷۰ درصد به لوله افزوده شد و سپس به مدت ۸ دقیقه در ۷۵۰۰ rpm سانتریفیوژ گردید. مایع رویی تخلیه شد و در دمای محیط قرار گرفت تا خشک شود. ۳۰ µl آب تیمار شده با DEPC (vivantis، مالزی) به لوله افزوده و در ۲۰ ºC- نگهداری شد.

سنتز cDNA: برای انجام سنتز cDNA (complementary DNA) ابتدا ۱ µl Random hexamer primer (سیناژن، ایران) به همراه ۱ µl OligodT (سیناژن، ایران) و ۱ µl dNTP (Deoxynucleotide triphosphate) (سیناژن، ایران) با هم مخلوط، سپس ۱۰ µl از RNA نمونه اضافه و مخلوط حاصل به مدت ۵ دقیقه در ۶۵ ºC انکوبه گردید و سپس روی یخ قرار گرفت. در مرحله‌ی بعد، ۴/۵ µl آب به همراه ۰/۵ µl M-MuLV (Moloney murine leukemia virus) (سیناژن، ایران) و ۲ µl buffer M-MuLV (سیناژن، ایران) با هم ترکیب و به مخلوط قبل اضافه گردید و به مدت ۱ ساعت در ۴۲ ºC قرار گرفت.

طراحی پرایمر: برای انجام این مرحله، ابتدا توالی دو ژن ESR۱ و GAPDH (Glyceraldehyde ۳-phosphate dehydrogenase) (ژن شاهد داخلی) از سایت NCBI (National center for biotechnology information) به دست آمد. طراحی پرایمرها توسط نرم‌افزار Express primer انجام شد. برای اطمینان از صحت و اختصاصیت پرایمرهای طراحی شده، توسط NCBI و نرم‌افزار Runner gene توالی BLAST (Basic local alignment search tool) گردید. توالی پرایمرها در جدول ۱ آمده است.

انجام واکنش Real time PCR: جهت انجام واکنش ۱۰ µl از Master Mix (۲ X) SYBR TM، ۰/۵ µl پرایمر جلویی، ۰/۵ µl پرایمر عقبی، ۲ µl از cDNA سنتز شده و ۷ µl dH_2O ترکیب و در دستگاه ABI-۷۵۰۰ (آمریکا) قرار داده شد. برنامه‌ی حرارتی برای تکثیر هر دو ژن GAPDH و ESR۱ یکسان و طبق جدول ۲ بود.

جدول ۱. توالی و مشخصات پرایمرهای به کار رفته برای واکنش Real time polymerase chain reaction

نام پرایمر F (ESR۱)	توالی	طول قطعه	دمای اتصال
F (ESR۱)	CACCCAGGGAAGCTACTGTT	۸۰ bp	۶۰ ºC
R (ESR۱)	ATCTCCACCATGCCCTCTAC		
F (GAPDH)	CCCACACACATGCACTTACC	۸۵ bp	۶۰ ºC
R (GAPDH)	TGCCTGTCCTTCCTAGCTCT		

ESR۱: Estrogen receptor۱

جدول ۲. برنامه‌ی حرارتی برای تکثیر دو ژن GAPDH (Glyceraldehyde ۳-phosphate dehydrogenase) و ESR۱ (Estrogen receptor۱)

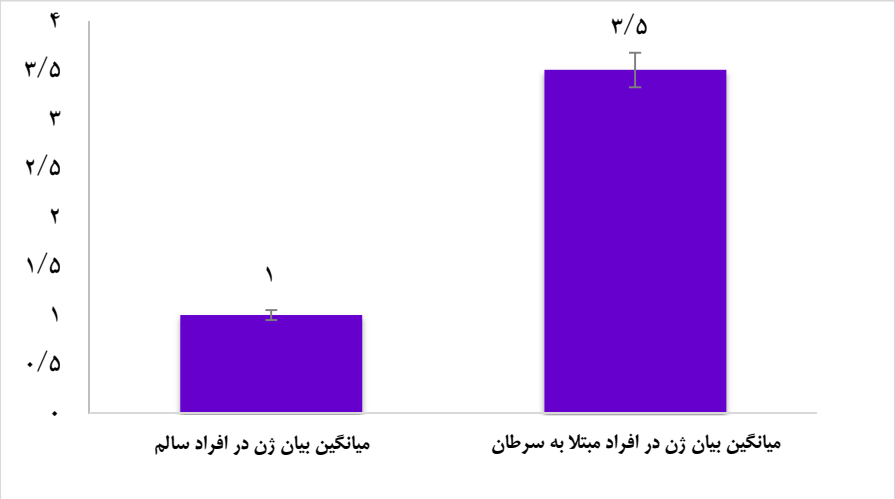
مرحله	چرخه	دما (°C)	زمان (s)
واسرشتگی اولیه	۱	۹۵	۱۰
واسرشتگی		۹۵	۵
اتصال و گسترش	۵۰	۶۰	۳۴

یافته‌ها

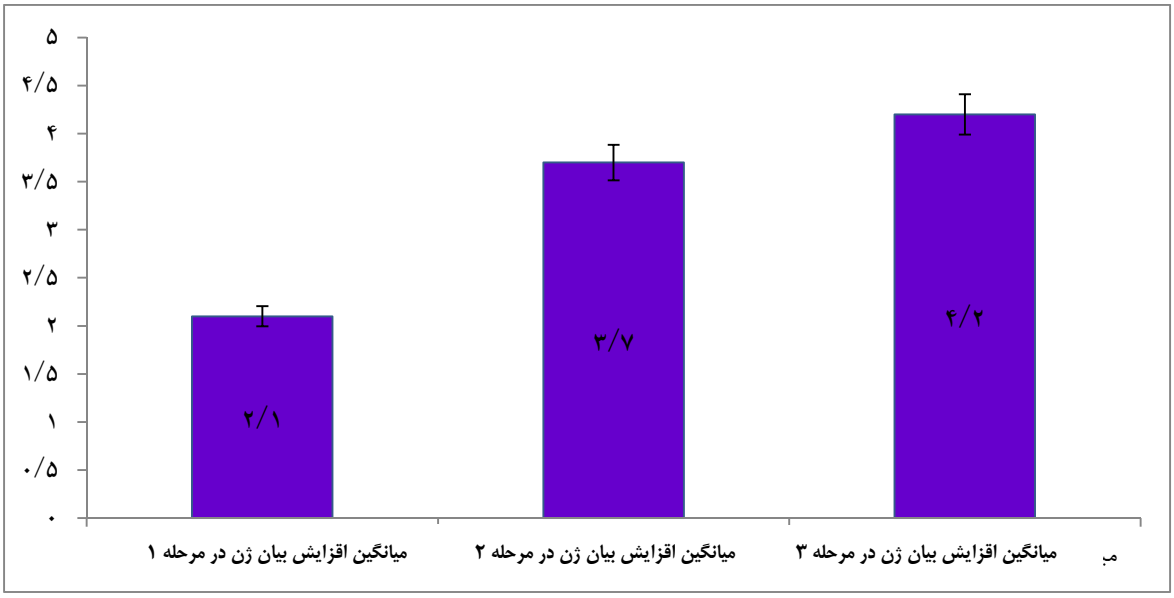
نتیجه‌ی آزمایش Real time PCR برای همه‌ی نمونه‌های شاهد داخلی و بیماران مثبت بود. به عبارت دیگر، همه‌ی نمونه‌ها بیان ژن GAPDH و افزایش بیان ژن ESR۱ را نشان دادند. پس از انجام واکنش تکثیر، ct نمونه‌ها توسط دستگاه محاسبه و به RQ (Relative quantification) یا میزان بیان تبدیل شد و اندازه‌گیری میزان بیان ژن با روش ΔΔCt انجام شد. میزان بیان نمونه‌های بیمار به صورت مقایسه‌ای با نمونه‌های طبیعی بیان گردید که در واقع، نتایج به دست آمده نسبت بیان ژن هدف به میزان بیان همان ژن در بافت طبیعی می‌باشد. به منظور تجزیه و تحلیل آماری نتایج به دست آمده، از نرم‌افزار Grafpad prism استفاده گردید.

با بررسی نتایج مشخص شد که میزان بیان ژن ESR۱ در افراد بیمار، به طور میانگین ۳/۵۴ برابر، نسبت به افراد طبیعی افزایش داشت ($P < ۰/۰۵۰۰$) (شکل ۱).

در بررسی‌های دقیق‌تر و با تفکیک مرحله‌ی بیماری افراد، مشخص گردید که میانگین افزایش بیان ژن ESR۱ در مرحله‌ی ۱ بیماری برابر با ۲/۱، در مرحله‌ی ۲ بیماری برابر با ۳/۷ و در مرحله‌ی ۳ برابر با ۴/۲ بود که این امر، نشان دهنده‌ی آن است که میزان بیان ژن ESR۱ با افزایش مرحله‌ی بیماری افزایش می‌یابد (شکل ۲) و ارتباط معنی‌داری بین پیشرفت مراحل بیماری و افزایش بیان ژن مشاهده گردید ($P < ۰/۰۰۰۱$).



شکل ۱. نمودار مقایسه‌ی بیان ژن ESR۱ (Estrogen receptor۱) در افراد مبتلا به سرطان و سالم



شکل ۲. نمودار مقایسه‌ی بیان ژن ESR۱ (Estrogen receptor۱) در افراد بیمار در مراحل مختلف بیماری در مقایسه با افراد سالم

همچنین اختلاف آماری معنی‌داری بین بیان ژن و افزایش سن بیماران مشاهده نگردید (P > ۰/۰۵۰۰).

بحث

سرطان پستان شایع‌ترین تومور بدخیم و سرطان منجر به مرگ در زنان می‌باشد (۱۳). شناخت عواملی که بتوانند به طور مستقیم یا غیر مستقیم، سرنوشت نهایی بیماران را پیش‌بینی کنند، در تصمیم‌گیری بالینی و انتخاب درمان مفید است (۱۴).

سرطان پستان یک بیماری ناهمگن است. سال‌ها این اعتقاد وجود داشته است که تومورهایی که ویژگی‌های زیست شناختی متفاوتی دارند، نتایج بالینی و پاسخ‌های درمانی متفاوتی دارند (۱۵). در حال حاضر، پیش‌آگهی و انتخاب درمان در سرطان پستان بر اساس تعیین وضعیت گیرنده‌های هورمون رشد در تومور است (۱۱).

برخی نشانگرهای زیستی به عنوان عوامل تخمین پاسخ‌دهی به درمان کاربرد دارند؛ یعنی به عنوان یک عامل تعیین پیش‌آگهی، توانایی تخمین پاسخ‌دهی به درمان ضد سرطان را دارند. از این رو، با تغییر این عوامل، درمان‌های ضد سرطان نیز تغییر خواهند یافت (۱۶).

مثال واضح و رایج در این مورد، وضعیت گیرنده‌ی استروژن (ER) است و ارتباط معنی‌داری بین وضعیت مثبت این گیرنده (ER+) با افزایش سن بیماران مبتلا به سرطان پستان وجود دارد. به همین دلیل، پاسخ‌دهی به درمان‌های ضد استروژنی، از پایه‌های اصلی درمان ضد سرطان پستان در سنین بالا است (۱۷).

Bieche و همکاران بیان ژن‌های گیرنده‌ی استروژن α و β را در سرطان سینه‌ی تک‌گیر با کاربرد روش Real time PCR بررسی و بیان نمودند که تومورهای استروژن منفی (شامل درجات خیلی کم ژن گیرنده‌ی استروژن α)، تومورهایی با تمایز ضعیف هستند. همچنین بیان کردند که گیرنده‌ی استروژن α، دارای فعالیت رونویسی بیشتری نسبت به گیرنده‌ی

استروژن β در ژن‌هایی می‌باشد که در پروموتر خود عناصر پاسخ به استروژن دارند. آن‌ها به این نتیجه رسیدند که میزان بیان ژن گیرنده‌ی استروژن α با افزایش سن و یائسگی زیاد می‌شود. به علاوه، بیان نمودند که اندازه‌گیری میزان بیان ژن گیرنده‌ی استروژن، می‌تواند به عنوان یک روش قابل اطمینان برای کاربرد کلینیکی مطرح باشد (۱۸).

de و همکاران بیان گیرنده‌ی استروژن α و β را اندازه گرفتند. آن‌ها بیان نمودند که گیرنده‌ی استروژن β در مقابل α، در سلول‌های سرطانی کمتر بیان می‌شود و روش Real time PCR برای کاربرد در آزمایش‌های کلینیکی، روش مناسبی است (۱۹).

Suzuki و همکاران بیان گیرنده‌ی استروژن α را در بافت‌های سرطانی انسان مورد سنجش قرار دادند. مطالعات آن‌ها پیشنهاد کرد که احتمال می‌رود گیرنده‌ی استروژن α بیان ERE را کنترل کند (۲۰).

با توجه به این که بافت پستان یکی از بافت‌های پاسخ دهنده به هورمون استروژن است و مواجهه با استروژن باعث افزایش رشد و تکثیر سلولی می‌شود، این هورمون و گیرنده‌ی آن نقش چشمگیری در سرطان پستان دارد (۲۲-۲۱). هورمون درمانی در بیماران مبتلا به تومورهای بدخیم +ER سبب کاهش چشمگیری در مرگ و میر ناشی از سرطان پستان می‌شود (۲۳). در واقع، داروهایی مثل تاموکسی‌فن (Tamoxifen) یکی از رویکردهای درمانی در تومورهای بدخیم دارای گیرنده‌ی استروژن است (۲۴، ۲۲).

در این مطالعه، میزان بیان ژن گیرنده‌ی استروژن α در زنان مبتلا به سرطان پستان با روش Real time PCR مورد ارزیابی قرار گرفت و نتایج بیانگر افزایش بیان قابل توجه (۳/۵ برابر) ژن گیرنده‌ی استروژن α در بلوک‌های پارافینه‌ی سرطانی نسبت به غیر سرطانی بود. نتایج همچنین بیانگر افزایش بیان ژن گیرنده‌ی استروژن α همراه با پیشرفت مراحل بیماری بود ($P < ۰/۰۰۰۱$)، که با توجه به پیش‌آگهی بهتر سرطان‌های پستان استروژن مثبت نسبت به سایر انواع سرطان‌های پستان، بیان کننده‌ی اهمیت تشخیص سریع نوع سرطان پستان از نظر بیان ژن گیرنده‌ی استروژن برای انتخاب روش درمانی مناسب جهت پیشگیری از پیشرفت بیماری است. در واقع، داروهای استفاده شده برای افراد مبتلا به سرطان پستان استروژن مثبت مانند تاموکسی‌فن با جلوگیری از اتصال استروژن به گیرنده‌اش، از رشد و تکثیر بیشتر سلول‌های سرطانی جلوگیری می‌کنند و طول عمر بدون بیماری بیشتری را برای بیمار رقم می‌زنند.

اختلاف آماری معنی‌داری بین افزایش بیان ژن گیرنده‌ی استروژن α و افزایش سن بیماران مشاهده نگردید. این مسأله می‌تواند بیانگر این موضوع باشد که عدم تعادل هورمونی به عوامل مختلفی وابسته است و در هر سنی احتمال به هم خوردن این تعادل و ایجاد تومور وجود دارد. در واقع، بررسی بیان ژن گیرنده‌ی استروژن در همه‌ی بیماران با هر رده‌ی سنی برای انتخاب روش درمانی مناسب اجتناب ناپذیر به نظر می‌رسد.

با توجه به این که افزایش بیان گیرنده‌های هورمونی به ویژه استروژن نقش چشمگیری در ایجاد سرطان پستان دارد، بنابراین سنجش میزان بیان این گیرنده‌ها با استفاده از یک روش کمی و دقیق مانند روش Real time PCR، می‌تواند نقش مؤثری در

کاهش مرگ و میر افراد مبتلا به سرطان پستان داشته باشد.

این مطالعه برای اولین بار در ایران به بررسی میزان بیان ژن گیرنده‌ی استروژن α در بیماران مبتلا به سرطان پستان به روش Real Time PCR پرداخت و با توجه به نتیجه‌ی این مطالعه، به نظر می‌رسد که گیرنده‌ی استروژن α نقش‌های متفاوتی در تنظیم ژن‌ها و در نتیجه، سرطان پستان بازی می‌کند و بررسی بیان آن، کلید تشخیصی پاسخ‌های سلولی به داروهای استروژنی و ضد استروژن است. در نهایت، روش Real time PCR به علت حساس بودن و بازده بالا، می‌تواند به عنوان یک روش ارزشمند، جهت تشخیص کلینیکی مطرح باشد.

تشکر و قدردانی

بدین وسیله از سرکار خانم دکتر هما رئیسی دهکردی به خاطر همکاری صمیمانه‌ی ایشان قدردانی می‌گردد.

References

1. International Agency for Research on cancer. Cancer mondial [Online]. [cited 2006 Dec 7]; Available from: URL:http://www-dep.iarc.fr
2. Iranian Center for Prevention and Control of Disease, Center of Disease Management, Ministry of Health and Medical Education. Summary report on cancer incidence in Iran. Tehran, Iran: Ministry of Health and Medical Education: 2000.
3. Harirchi I, Karbakhsh M, Kashefi A, Momtahen AJ. Breast cancer in Iran: results of a multi-center study. Asian Pac J Cancer Prev 2004; 5(1): 24-7.
4. Antoniou AC, Easton DF. Models of genetic susceptibility to breast cancer. Oncogene 2006; 25(43): 5898-905.
5. Easton DF, Pooley KA, Dunning AM, Pharoah PD, Thompson D, Ballinger DG, et al. Genome-wide association study identifies novel breast cancer susceptibility loci. Nature 2007; 447(7148): 1087-93.
6. Noori-Daloii MR. Medical molecular genetics in the 3rd millennium. Tehran, Iran: Samer Publications; 2009.
7. Shao W, Brown M. Advances in estrogen receptor biology: prospects for improvements in targeted breast cancer therapy. Breast Cancer Res 2004; 6(1): 39-52.
8. Foidart JM, Colin C, Denoo X, Desreux J, Beliard A, Fournier S, et al. Estradiol and progesterone regulate the proliferation of human breast epithelial cells. Fertil Steril 1998; 69(5): 963-9.
9. Amend K, Hicks D, Ambrosone CB. Breast cancer in African-American women: differences in tumor biology from European-American women. Cancer Res 2006; 66(17): 8327-30.
10. Shyamala G, Chou YC, Cardiff RD, Vargis E. Effect of c-neu/ ErbB2 expression levels on estrogen receptor alpha-dependent proliferation in mammary epithelial cells: implications for breast cancer biology. Cancer Res 2006; 66(21): 10391-8.
11. DeVita VT, Lawrence TS, Rosenberg SA. Cancer: principles and practice of oncology-advances in oncology. Philadelphia, PA: Lippincott Williams and Wilkins; 2010.
12. Massarweh S, Schiff R. Unraveling the mechanisms of endocrine resistance in breast cancer: new therapeutic opportunities. Clin Cancer Res 2007; 13(7): 1950-4.
13. Rosai J. Rosai and Ackerman's surgical pathology. New York, NY: Mosby; 2004.
14. Harris JR, Lippman ME, Osborne CK, Morrow M. Diseases of the breast. 4th ed. Philadelphia, PA: Lippincott Williams and Wilkins; 2011.
15. Noori-Daloii MR, Tabarestani S. Molecular genetics, diagnosis and treatment of breast cancer: review article. J Sabzevar Univ Med Sci 2000; 17(2): 74-87. [In Persian].
16. Balducci L. Management of cancer in the elderly. Oncology (Williston Park) 2006; 20(2): 135-43.
17. Benz CC. Impact of aging on the biology of breast cancer. Crit Rev Oncol Hematol 2008; 66(1): 65-74.
18. Bieche I, Parfait B, Laurendeau I, Girault I, Vidaud M, Lidereau R. Quantification of estrogen receptor alpha and beta expression in sporadic breast cancer. Oncogene 2001; 20(56): 8109-15.
19. de Cremoux P, Tran-Perennou C, Elie C, Boudou E, Barbaroux C, Poupon MF, et al.

Quantitation of estradiol receptors alpha and beta and progesterone receptors in human breast tumors by real-time reverse transcription-polymerase chain reaction. Correlation with protein assays. Biochem Pharmacol 2002; 64(3): 507-15.

20. Suzuki T, Miki Y, Moriya T, Shimada N, Ishida T, Hirakawa H, et al. Estrogen-related receptor alpha in human breast carcinoma as a potent prognostic factor. Cancer Res 2004; 64(13): 4670-6.

21. Lopez-Tarruella S, Schiff R. The dynamics of estrogen receptor status in breast cancer: re-shaping the paradigm. Clin Cancer Res 2007; 13(23): 6921-5.

22. Ariazi EA, Ariazi JL, Cordera F, Jordan VC. Estrogen receptors as therapeutic targets in breast cancer. Curr Top Med Chem 2006; 6(3): 181-202.

23. Effects of chemotherapy and hormonal therapy for early breast cancer on recurrence and 15-year survival: an overview of the randomised trials. Lancet 2005; 365(9472): 1687-717.

24. Yamashita H. Current research topics in endocrine therapy for breast cancer. Int J Clin Oncol 2008; 13(5): 380-3.

Journal of Isfahan Medical School
Received: 02.11.2014
Vol. 32, No. 317, 2nd Week, March 2015
Accepted: 25.01.2015

The Expression of ESR1 Gene in Paraffin Tissue Blocks of Women with Breast Cancer

Maryam Ghanbarian-Alavijeh MSc[1], Elham Moslemi PhD[2], Amir Izadi MSc[3]

Original Article

Abstract

Background: Breast cancer is the most common malignant tumor and cause of cancer death in women. Some biomarkers are used to estimate the response to therapy. One of the most common indicators is estrogen receptors (ER). It seems that there is a significant correlation between receptor existence (ER +) and risk of breast cancer. This study aimed to measurement the estrogen receptor alpha expression in women with breast cancer.

Methods: In this study, 20 cancerous paraffin-embedded tissue blocks from patients with breast cancer and 10 non-cancerous were collected. After deparaffinization, RNA was extracted with RNX Plus solution. Complementary DNA (cDNA) was synthesized via reverse transcription reaction using Moloney murine leukemia virus (MMULV) enzyme. Estrogen receptors gene expression was measured using relative real-time polymerase chain reaction (real-time PCR) reaction. In this study, glyceraldehyde-3-phosphate-dehydrogenase (GAPDH) was used as internal control gene.

Findings: Estrogen receptor alpha expression in cancerous tissues had significant over-expression compared to normal tissues. Also, increasing the stage of disease, expression of estrogen receptor alpha was increased ($P < 0.0001$).

Conclusion: According to the results, it can be concluded that the estrogen receptor alpha gene expression strongly increases in tumor samples. So, determination of estrogen receptor alpha expression can be used as indicator agent for response to treatment and follow-up.

Keywords: Breast cancer, Estrogen receptor alpha, Real-time polymerase chain reaction

Citation: Ghanbarian-Alavijeh M, Moslemi E, Izadi A. **The Expression of ESR1 Gene in Paraffin Tissue Blocks of Women with Breast Cancer.** J Isfahan Med Sch 2015; 32(317): 2324-32

1- Department of Biology, School of Basic Sciences, Islamic Azad University, East Tehran Branch, Tehran, Iran
2- Assistant Professor, Department of Biology, School of Basic Sciences, Islamic Azad University, East Tehran Branch, Tehran, Iran
3- Young Researchers and Elite Club, Islamic Azad University, East Tehran Branch, Tehran, Iran
Corresponding Author: Maryam Ghanbarian-Alavijeh MSc, Email: mghanbaryan@yahoo.com