مجله دانشکده پزشکی اصفهان
سال سی و دوم/شماره ۳۱۱/هفته چهارم دی ماه ۱۳۹۳

تاریخ دریافت: ۱۳۹۳/۶/۱۶
تاریخ پذیرش: ۱۳۹۳/۹/۲

پلی‌مورفیسم تکرار GGC در ژن eRF۳/GSPT۱ و ارتباط آن با خطر ابتلا به سرطان کولورکتال

زهرا یوسف‌زاده[۱]، دکتر منوچهر توسلی[۲]، دکتر سیمین همتی[۳]، فروزان صفری[۴]

مقاله پژوهشی

چکیده

مقدمه: سرطان کولورکتال، سومین علت مرگ ناشی از سرطان در بین مردان و چهارمین عامل در بین زنان در ایران می‌باشد. پروتئین eRF۳/GSPT۱ (عامل شماره‌ی ۳ ختم ترجمه‌ی یوکاریوتی) یک GTPase وابسته به eRF۱ است که در یک کمپلکس واسطه سبب پایان ترجمه در یوکاریوت‌ها می‌شود. علاوه بر نقش آن در پایان ترجمه، عامل ختم یوکاریوت شماره‌ی ۳ (eRF۳) در چندین فرایند سلولی از جمله تنظیم سیکل سلولی و عبور از مرحله‌ی G۱ به مرحله‌ی S در سیکل سلولی، سازمان‌بندی سایتواسکلتون، mRNA decay، بازسازی ریبوزم و آپوپتوز شرکت می‌نماید. شواهد متعددی بر اساس مطالعات پیشین بر روی پلی‌مورفیسم تکرارهای n (GGC) (پلی‌گلایسین) که بر روی اگزون ۱ ژن eRF۳/GSPT۱ قرار دارد، از وجود نقش عوامل ترجمه‌ی یوکاریوتی در ایجاد سرطان حمایت می‌کنند.

روش‌ها: در این مطالعه، تعداد تکرارهای آللی ریز ماهواره‌ی n (GGC) در ژن eRF۳/GSPT۱ در ۱۵۳ بیمار با سرطان کولورکتال و ۲۸۰ فرد به عنوان شاهد در جمعیت اصفهان تعیین شد. بسط‌های GGC توسط تکنیک PCR (Polymerase chain reaction) تکثیر گردید و تعداد تکرار GGC به وسیله‌ی الکتروفورز بر روی ژل پلی‌آکریلامید و به وسیله‌ی تعیین توالی به دست آمد. آلل‌های تعیین توالی شده به عنوان نشانگرهای مخصوص برای تعیین دقیق تعداد تکرارها استفاده شد.

یافته‌ها: چهار طول متفاوت از تکرارهای GGC در محدوده‌ی ۱۲، ۱۱، ۱۰ و ۷ تکرار مشاهده شد. بیشترین فراوانی ژنوتیپی در بین افراد شاهد و مورد هموزیگوت‌ها با طول ۱۰ تکرار مشاهده شد. ارتباط مستقیمی بین حضور آلل ۱۲-Gly و خطر ابتلا به سرطان روده‌ی بزرگ مشاهده شد (OR = ۲/۷، P = ۰/۰۴۰۰). همچنین، میان تعداد تکرارهای پلی‌مورفیسم ژن eRF۳/GSPT۱ و توارث بیماری ارتباط معنی‌داری مشاهده شد (OR = ۱۰/۷، P = ۰/۰۰۰۱).

نتیجه‌گیری: مطالعه‌ی حاضر نشان داد که افراد حامل آلل ۱۲ تکرار در خطر بیشتری برای ابتلا به سرطان روده‌ی بزرگ می‌باشند.

واژگان کلیدی: سرطان کولورکتال، پلی‌مورفیسم، عامل ترجمه‌ی یوکاریوتی شماره‌ی ۳ (eRF۳)

ارجاع: یوسف‌زاده زهرا، توسلی منوچهر، همتی سیمین، صفری فروزان. **پلی‌مورفیسم تکرار GGC در ژن eRF۳/GSPT۱ و ارتباط آن با خطر ابتلا به سرطان کولورکتال.** مجله دانشکده پزشکی اصفهان ۱۳۹۳؛ ۳۲ (۳۱۱): ۲۰۱۴-۲۰۰۶

۱- دانشجو، گروه زیست‌شناسی، دانشکده‌ی علوم، دانشگاه اصفهان، اصفهان، ایران
۲- دانشیار، گروه زیست‌شناسی، دانشکده‌ی علوم، دانشگاه اصفهان، اصفهان، ایران
۳- استادیار، گروه پرتودرمانی، دانشکده‌ی پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران
۴- کارشناس آزمایشگاه، گروه زیست‌شناسی، دانشکده‌ی علوم، دانشگاه اصفهان، اصفهان، ایران
نویسنده‌ی مسؤول: دکتر منوچهر توسلی
Email: manoochehr@biol.ui.ac.ir

مقدمه

سرطان روده‌ی بزرگ، بیماری است که از سلول‌های اپی‌تلیال مجرای روده سرچشمه می‌گیرد و سبب رشد توده‌ی سرطان در کولون، رکتوم و آپاندیس می‌شود. میزان شیوع این بیماری، ۶۶۵/۰۰۰ مرگ در سراسر جهان در سال می‌باشد (۱). سرطان کولورکتال، یک بیماری کشنده و به نسبت شایع (۵۰۰۰ مورد جدید در سال در ایران) می‌باشد و با توجه به بروز بالای سرطان کولورکتال (۷ در ۱۰۰۰۰۰ نفر) این بیماری سومین علت مرگ ناشی از سرطان در بین مردان و چهارمین عامل در بین زنان در ایران بیان می‌شود (۲). خطر رشد سرطان با افزایش سن افزایش می‌یابد. بیشترین موارد در سن ۷۰-۶۰ سالگی اتفاق می‌افتد. در حالی که موارد قبل از سن ۵۰ سال نادر است؛ مگر آن که سابقه‌ی خانوادگی در بیمار وجود داشته باشد. تغییر در برخی از ژن‌ها خطر ابتلا به سرطان کولورکتال را افزایش می‌دهد از جمله سرطان غیر پلیپوزی ارثی کولورکتال (HNPCC یا Hereditary nonpolyposis colorectal cancer) و پلی‌پوزیز آدنوماتوز خانوادگی (FAB یا Familial adenomatous polyposis). به علاوه، جهش در سلول‌های جنسی یا سوماتیک در توالی‌های خاصی از DNA از جمله ژن‌های همانندسازی DNA یا ژن‌های ترمیم DNA و یا ژن‌هایی که باعث رشد نامحدود سلول می‌شوند، می‌تواند باعث سرطان روده‌ی بزرگ شود (۳). در پژوهش‌های اخیر مشخص شده است که ژن‌های دخیل در پایان ترجمه نیز می‌توانند باعث ایجاد سرطان شوند (۴).

پایان ترجمه در یوکاریوت‌ها از سه کدان ختم UGA، UAG و UAA که در سایت A ریبوزوم قرار می‌گیرند و عوامل ختم ترجمه که با eRF۱ و eRF۲ مشخص می‌شوند، تبعیت می‌کند (۶-۵). عملکرد اصلی eRF۱، انتقال سیگنال از زیر واحد کوچک ریبوزوم به زیر واحد بزرگ و به محرک پپتیدیل tRNA-هیدرولایز است (۷).

eRF۳ یک GTPase (Guanosine triphosphatase) است که فعالیت آن به طور کامل به ریبوزوم و eRF۱ وابسته است (۸). پیشنهاد شده است که eRF۳ به باند شدن eRF۱ به کدان ختم ریبوزوم شارژ شده کمک می‌کند (۹). در پستانداران دو ژن جدا، eRF۳ را کد می‌نمایند که شامل eRF۳a/GSPT۱ و eRF۳b/GSPT۲ است. این ژن‌ها برای پروتئین‌های eRF۳a و eRF۳b کد می‌کنند. مکان این ژن‌ها به ترتیب بر روی کروموزوم‌های p۱۳.۱۱۶ و Xp۱۱.۲۱-۲۳ در انسان می‌باشد (۱۰). هر دو eRF۳a و eRF۳b می‌توانند به eRF۱ باند شوند و فعالیت GTPas داشته باشند (۱۱). مشخص شده است که هر دو پروتئین eRF۱ و eRF۳ نه تنها با یکدیگر برهمکنش دارند، بلکه با پروتئین‌های دیگر نیز بر همکنش می‌نمایند. مطالعات ارتباط eRF3/GSPT1 را با تنظیم سیکل سلولی و عبور از مرحله‌ی G۱ به مرحله‌ی S در سیکل سلولی (۱۲)، سازمان‌بندی سایتواسکلتون (۱۳)، mRNA decay (Messenger RNA decay) (۱۵-۱۴)، بازسازی ریبوزوم، آپوپتوز (۱۷-۱۶) و تومورزایی (۱۲) مشخص کرده‌اند.

دمین N-ترمینال eRF۳/GSPT۱ شامل یک بسط پلی گلایسین است که به وسیله‌ی تکرارهای n (GGC) در اگزون ۱ ژن eRF۳/GSPT۱ کد می‌شود (۱۸). اگر طول بسط‌های GGC روی اتصال مؤثر

عوامل رونویسی یا پروتئین‌های Cis-acting اثر بگذارد، سطح رونویسی با تعداد حضور تکرارهای GGC متناسب خواهد بود. بنابراین، افراد با آلل‌های طولانی‌تر (یا کوتاه‌تر) ممکن است استعداد بیشتر (یا کمتر) برای سرطان داشته باشند. تفاوت در فرکانس آللی بین جمعیت‌های مختلف می‌تواند نشان دهنده‌ی تفاوت استعداد جمعیت برای سرطان باشد (۱۹).

در مطالعات گذشته، بین وجود پلی‌مورفیسم تکرارهای n (GGC) و ایجاد سرطان‌های معده، پستان و روده‌ی بزرگ ارتباط مستقیمی دیده شد. بنابراین نقش مهمی برای این عامل تنظیم کننده‌ی ترجمه در بالا بردن خطر سرطان شناخته شده است (۲۰-۱۹). هدف از این مطالعه، بررسی تعداد تکرارهای آللی ریز ماهواره‌ی n (GGC) در ژن eRF۳/GSPT۱ در بیماران مبتلا به سرطان کولورکتال و افراد سالم به عنوان شاهد در جمعیت اصفهان و ارتباط بین خطر ابتلا به سرطان کولورکتال و طول تکرارهای پلی‌مورفیسم n (GGC) بود. این امر می‌تواند در شناسایی افراد مستعد به سرطان کولورکتال کمک نماید.

روش‌ها

نمونه‌ی خون از ۱۵۳ فرد مبتلا به سرطان کولورکتال (۸۵ مرد و ۶۸ زن) و ۲۸۰ فرد سالم در محدوده‌ی سنی ۹۰-۳۰ سال در واحد نمونه‌گیری بیمارستان سیدالشهدا (ع) شهر اصفهان با رضایت بیماران گرفته شد. جهت جمع‌آوری اطلاعات بالینی و انجام مطالعات آماری، فرم‌های پرسش‌نامه طراحی شد که حاوی اطلاعاتی از جمله شماره‌ی پرونده، سن فرد، سوابق خانوادگی ابتلا به سرطان و درجه‌ی پیشرفت بیماری می‌شد.

در استخراج DNA ژنومی از خون، از روش رسوب نمکی استفاده شد. DNA استخراج شده توسط اتانول رسوب و سپس نمک‌زدایی شد و در نهایت، در محلول TE در دمای ۲۰ ^{o}C- نگهداری شد. ناحیه‌ی ژنی مورد نظر (لوکوس GGC) توسط پرایمرهای پیرو '۳- CTG GTC CCA GCA GTC -۵'AGG و پیشرو '۳- CAT TTC TCG CTC -۵'- TCT GTC CAC تکثیر گردید.

واکنش زنجیر پلیمراز در حجم نهایی ۲۵ µl حاوی ۱۰۰-۲۰۰ ng DNA ژنومی، ۲۰۰ µM dNTPs (Deoxynucleotide triphosphates)، ۲۰۰ nM از هر یک از پرایمرهای پیشرو و پیرو، ۲ mM $MgCl_2$، ۲/۵ µl DMSO (Dimethyl sulfoxide) ۱۰ درصد، ۵ µl بتائین ۵ M، ۲/۵ µl از ۱۰x بافر PCR (Polymerase chain reaction) و ۲ U آنزیم SmarTaq DNA polymerase (شرکت سیناژن تهران) در دستگاه ترموسایکلر شرکت اپندورف انجام شد. پس از واسرشت شدن اولیه در دمای ۹۴ ^{o}C به مدت ۵ دقیقه، ۳۳ سیکل PCR با دمای ۹۴ ^{o}C به مدت ۱ دقیقه برای واسرشت شدن رشته‌ها، ۵۹ ^{o}C به مدت ۱ دقیقه جهت اتصال پرایمرها و ۷۲ ^{o}C به مدت ۱ دقیقه برای گسترش پرایمرها انجام شد. یک سیکل انتهایی نیز جهت تکثیر توالی‌های ناقص به مدت ۱۰ دقیقه در دمای ۷۲ ^{o}C در نظر گرفته شد.

شرایط انجام PCR بدین صورت بود: چرخه‌ی اول ۹۴ ^{o}C به مدت ۵ دقیقه، سپس ۳۳ چرخه‌ی ۹۴ ^{o}C به مدت ۱ دقیقه، دمای ۶۰ ^{o}C به مدت ۱ دقیقه، دمای ۷۲ ^{o}C به مدت ۱ دقیقه و در نهایت، یک چرخه‌ی ۷۲ ^{o}C به مدت ۱۰ دقیقه. آلل‌ها در

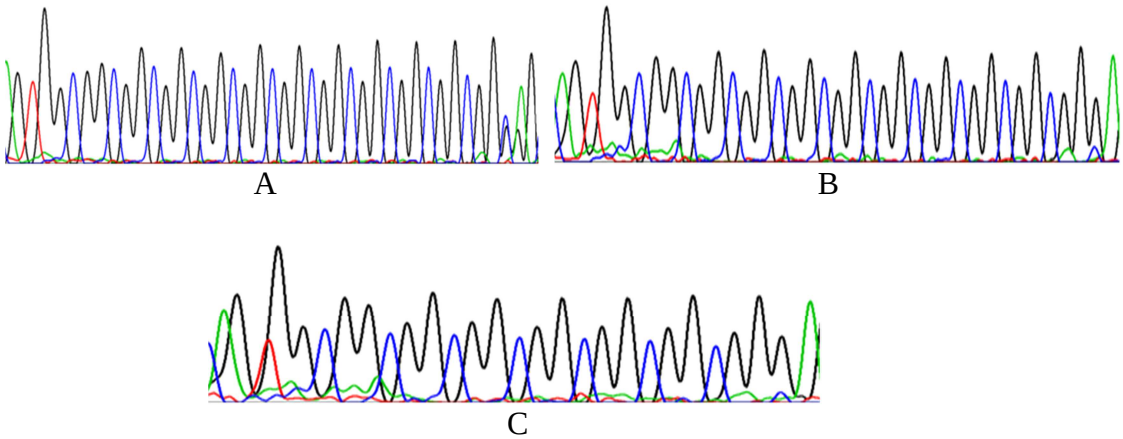
اندازه‌های مختلف با استفاده از ژل پلی آکریل آمید ۱۰ درصد جدا شدند و پس از رنگ‌آمیزی با نیترات نقره، نتایج توسط اسکنر ثبت گردید. سپس آلل‌ها در اندازه‌های مختلف جهت انجام تعیین توالی انتخاب شدند. این آلل‌های تعیین توالی شده، سپس به عنوان نشانگرهای اختصاصی برای تعیین دقیق تعداد تکرارهای GGC در نمونه‌های دیگر مورد استفاده قرار گرفتند (شکل ۱). پس از به دست آوردن تعداد تکرارهای GGC در افراد مورد و شاهد، فراوانی هر کدام از تکرارهای GGC با استفاده از سرویس اینترنتی SISA (http://home.clera.net/sisa/) محاسبه شد. ارتباط این تکرارها با بروز سرطان پستان در جمعیت به کمک آزمون‌های χ^2 و نسبت افزاینده (OR یا Odd ration) مورد بررسی قرار گرفت.

یافته‌ها

برای تعیین دقیق تعداد تکرارهای GGC واقع بر روی ژن eRF۳/GSPT۱ بررسی‌های محصول PCR بر روی ژل پلی آکریل آمید ۱۰ درصد انجام شد (شکل ۲).

در این مطالعه، ۴ آلل مختلف برای اگزون شماره‌ی ۱ ژن eRF۳/GSPT۱ در محدوده‌ی ۱۲-۷ تکرار در افراد شاهد و مورد (مبتلایان به سرطان کولورکتال) تشخیص داده شد. از بین این آلل‌ها، آلل ۱۰ تکرار بیشترین فراوانی را در بین افراد مورد (۶۸/۳۰ درصد) و شاهد (۶۷/۹۰ درصد) داشت. دومین فراوانی آلل در بین افراد مورد و شاهد، آلل ۱۱ تکرار با فراوانی به ترتیب ۲۴/۱۸ درصد و ۲۵/۳۰ درصد مشاهده شد. آلل ۱۲ تکرار کمترین فراوانی را در بین افراد شاهد (۱/۳۰ درصد) و مورد (۳/۲۷ درصد) دارا بود. در جدول ۱ فراوانی آلل‌ها در بین افراد مورد مطالعه برای ژن eRF۳/GSPT۱ آمده است.

همان‌طور که در جدول ۱ مشخص شده است، توزیع آلل ۱۲ تکرار در بین دو گروه مورد و شاهد یکسان نیست. این نتایج نشان داد که افراد حامل این آلل، بیشتر در خطر ابتلا به سرطان کولورکتال نسبت به جمعیت شاهد می‌باشند. صحت این مطلب با انجام آزمون‌های آماری تأیید شد (OR = ۲/۷ و P = ۰/۰۴۰۰).



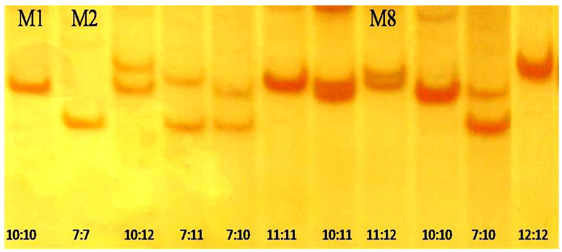
شکل ۱. کروماتوگرام نتایج حاصل از تعیین توالی هر یک از نشانگرهای آللی ژن eRF۳/GSPT۱ (A) دارای دو آلل ۱۰ تکرار، (B) دارای دو آلل ۱۱ و ۱۲ تکرار، (C) دارای دو آلل ۷ تکرار

جدول ۱. فراوانی آللی و Odds ratio تکرارهای GGC در اگزون شماره‌ی ۱ ژن eRF۳/GSPT۱ در افراد شاهد و مورد

تعداد تکرارهای GGC	تعداد آل‌ها		OR	٪۹۵ CI	مقدار P
	شاهد تعداد (درصد)	مورد تعداد (درصد)			
۷ (GGC)	۳۱ (۵/۵)	۴/۲ (۴/۲)	۰/۷	(۰/۳۹–۱/۴۷)	۰/۴۱
۱۰ (GGC)	۳۸۰ (۶۷/۹)	۲۰۹ (۶۸/۳)	۱/۰	(۰/۷۶–۱/۳۷)	۱/۰۰
۱۱ (GGC)	۱۴۲ (۲۵/۳)	۷۴ (۲۴/۲)	۰/۹	(۰/۶۸–۱/۳۰)	۰/۷۰
۱۲ (GGC)	۷ (۱/۳)	۱۰ (۳/۳)	۲/۷	(۱/۰۱–۷/۰۸)	۰/۰۴
مجموع	۵۶۰ (۱۰۰)	۳۰۶ (۱۰۰)			۰/۴۱

جدول ۲. فراوانی ژنوتیپی و Odds ratio تکرارهای GGC در اگزون شماره‌ی ۱ ژن eRF۳/GSPT۱ در افراد شاهد و مورد

تعداد ژنوتیپ‌های GGC	تعداد ژنوتیپ‌ها		(٪۹۵ CI)	OR	مقدار P
	شاهد تعداد (درصد)	مورد تعداد (درصد)			
۷/۷	۱ (۰/۳)	۱ (۰/۶)	(۰/۱۱–۲۹/۵۰)	۱/۸۳	۰/۶۶
۷/۱۰	۱۹ (۶/۸)	۸ (۵/۲)	(۰/۷۶–۱/۷۷)	۰/۷۶	۰/۵۲
۷/۱۱	۱۰ (۳/۶)	۳ (۱/۹)	(۰/۱۵–۱/۹۹)	۰/۵۴	۰/۳۵
۱۰/۱۰	۱۳۰ (۴۶/۴)	۷۴ (۴۸/۴)	(۰/۷۳–۱/۶۰)	۱/۰۸	۰/۷۰
۱۰/۱۱	۹۵ (۳۳/۹)	۴۸ (۳۱/۴)	(۰/۵۸–۰/۳۶)	۰/۸۹	۰/۵۹
۱۰/۱۲	۶ (۲/۱)	۵ (۳/۳)	(۰/۴۶–۵/۱۴)	۱/۵۴	۰/۴۸
۱۱/۱۱	۱۸ (۶/۴)	۱۰ (۶/۵)	(۰/۴۶–۲/۲۶)	۱/۰۲	۰/۹۶
۱۱/۱۲	۱ (۰/۳)	۳ (۱/۹)	(۰/۵۶–۵۳/۱۴)	۵/۴۸	۰/۱۰
۱۲/۱۲	۰ (۰)	۱ (۰/۶)			



شکل ۲. ژل پلی آکریل آمید ۱۰ درصد جهت بررسی پلی‌مورفیسم تکرارهای n (GGC) در اگزون شماره‌ی ۱ ژن eRF۳/GSPT۱. علاوه بر نشانگر ۱۰۰ جفت بازی از نمونه‌های M۸، M۲ و M۱ بعد از تعیین توالی به عنوان نشانگرهای مخصوص آلل استفاده شد

همچنین ۹ ترکیب ژنوتیپی مختلف در بین افراد مورد مطالعه مشاهده شد که بیشترین فراوانی در بین افراد مورد (۴۸/۴۰ درصد) و افراد شاهد (۴۶/۴۰ درصد) مربوط به ژنوتیپ ۱۰/۱۰ بود (جدول ۲). اختلاف معنی‌داری بین مجموع ژنوتیپ‌های ۱۱/۱۲ و ۱۲/۱۲ مشاهده شد (OR = ۷/۵ و P = ۰/۰۳۰۰) (جدول ۳).

در این مطالعه، میان تعداد تکرارهای پلی‌مورفیسم ژن eRF۳/GSPT۱ و توارث بیماری نیز یک ارتباط قوی مشاهده شد (OR = ۱۰/۷۵ و P = ۰/۰۰۰۱)؛ به طوری که افرادی که دارای سابقه‌ی سرطان کولورکتال در خویشان نزدیک و حامل آلل ۱۲ تکرار GGC بودند، ۱۰ مرتبه بیشتر در خطر ابتلا به سرطان روده‌ی بزرگ بودند (جدول ۴).

جدول ۳. ارتباط بین ژنوتیپ‌های ۱۱/۱۲ و ۱۲/۱۲ تکرار GGC و خطر ابتلا به سرطان روده‌ی بزرگ

ژنوتیپ	گروه		OR (٪۹۵ CI)	مقدار P
	شاهد تعداد (درصد)	مورد تعداد (درصد)		
۱۱/۱۲ + ۱۲/۱۲	۱ (۰/۳)	۴ (۲/۵)	۷/۵	۰/۰۳۰۰

جدول ۴. ارتباط بین آلل ۱۲ تکرار GGC و سابقه‌ی فامیلی ابتلا به سرطان روده‌ی بزرگ

بیماران	تعداد تکرارهای GGC		OR (٪۹۵ CI)	مقدار P
	بدون آلل ۱۲ تکرار تعداد (درصد)	با آلل ۱۲ تکرار تعداد (درصد)		
با سابقه‌ی فامیلی	۴ (۴۴/۴)	۵ (۵۵/۶)	۱۰/۷ (۲/۶-۴۴/۱)	۰/۰۰۰۱
بدون سابقه‌ی فامیلی	۱۲۸ (۸۹/۵)	۱۵ (۱۰/۵)		

بحث

GSPT۱ یک GTPase وابسته به eRF۱ است که در یک کمپلکس واسطه سبب پایان ترجمه در یوکاریوت‌ها می‌شود. در کنار نقش مهم eRF۳/GSPT۱ در ترجمه، ارتباط آن با تنظیم سیکل سلولی و عبور از مرحله‌ی G۱ به مرحله‌ی S در سیکل سلولی، سازمان‌بندی سایتواسکلتون، mRNA decay، بازسازی ریبوزوم، آپوپتوز و تومورزایی مشخص شده است (۲۰-۱۲). بنابراین، با توجه به نقش مهمی که این ژن در حیاط سلول دارد، تغییرات جهشی و یا تغییر در بیان این ژن می‌تواند سبب افزایش خطر ابتلا به سرطان شود. نقش eRF۳/GSPT۱ در سرطان اولین بار توسط Brito و همکاران بر روی سرطان معده مورد مطالعه قرار گرفت. در این تحقیق، ۹ مورد از ۲۵ مورد بررسی شده افزایش بیان ژن GSPT۱ را نشان دادند. بنابراین پیشنهاد شد افزایش بیان GSPT۱ ممکن است سبب افزایش بازدهی ترجمه‌ی رونوشت‌های خاص آنکوژنیک شود. با توجه به نقش GSPT۱ در تنظیم سیکل سلولی و آپوپتوز، ارتباط این ژن با سرطان دور از ذهن نیست. مسیر پاتوژنیک مولکولی که در این مورد منجر به بروز فنوتیپ سرطانی می‌شود، هنوز مشخص نیست؛ اما می‌تواند به علت ایجاد اثر عملکردی غالب، در نتیجه‌ی تغییر ساختمان سه بعدی پروتئین باشد که این تغییر ساختمانی، عملکرد پروتئین را تغییر می‌دهد. این مسأله می‌تواند بر وظایف eRF۳ در تنظیم ترجمه، سازمان‌دهی سایتواسکلتون، جداسازی کروموزومی و سیتوکینز یا آپوپتوز اثرگذار باشد (۲۰).

دمین N-ترمینال eRF۳/GSPT۱ شامل یک بسط پلی‌گلایسین است که به وسیله‌ی تکرارهای n (GGC) کد می‌شود که مکان این تکرارها درون یک ناحیه‌ی ۱۱۹۵ bp از جزایر CpG است که در UTR-۵′ اگزون ۱ و بخشی از اینترون ۱ ژن eRF۳/GSPT۱ می‌باشد (۱۹). اولین مطالعات بر روی پلی‌مورفیسم تکرارهای GGC در ژن eRF۳ توسط Brito و همکاران به منظور بررسی ارتباط تکرارهای GGC در این ژن با سرطان معده در یک جمعیت پرتغالی مورد مطالعه قرارگرفت. در مطالعات اولیه روی پلی‌مورفیسم تکرارهای n (GGC) ژن

eRF۳/GSPT۱ احتمال داده شد که این سایت پلی‌مورفیسم در ابتلا به سرطان نقش دارد. سپس، Malta-Vacas و همکاران، ارتباط تکرارهای GGC در اگزون شماره‌ی ۱ ژن eRF۳/GSPT۱ را در سرطان‌های پستان و کولورکتال در جمعیت پرتغال مورد بررسی قرار دادند. بر اساس مطالعاتی که بر روی بیماران مبتلا به سرطان کولورکتال در جمعیت پرتغال انجام شد، آلل ۱۲ تکرار تنها در بیماران مبتلا به سرطان کولورکتال (۱/۰۹ درصد) مشاهده شد، در حالی که افراد جمعیت شاهد فاقد این آلل بودند (۱۹). در این مطالعه، ارتباط آلل ۱۲ تکرار GGC با افزایش خطر ابتلا به سرطان کولورکتال تأیید شد. در ایران، اولین مطالعات بر روی پلی‌مورفیسم این ناحیه‌ی تکراری توسط میری و همکاران بر روی بیماران مبتلا به سرطان پستان در جمعیت اصفهان انجام شد (۲۱).

در مطالعه‌ی حاضر، ارتباط پلی‌مورفیسم تکرارهای GGC در اگزون شماره‌ی ۱ ژن eRF۳/GSPT۱ در بیماران مبتلا به سرطان روده‌ی‌بزرگ در جمعیت اصفهان مورد ارزیابی قرار گرفت. یافته‌های این مطالعه نشان داد افراد دارای آلل ۱۲ تکرار بیشتر در خطر ابتلا به سرطان کولورکتال در مقایسه با افراد دارای آلل‌های ۱۱، ۱۰ و ۷ تکرار می باشند. همچنین ارتباط معنی‌داری بین حضور آلل ۱۲ تکرار و سابقه‌ی فامیلی سرطان کولورکتال و افزایش خطر ابتلا به این سرطان مشاهده شد.

تشکر و قدردانی

در پایان از حمایت معاونت تحقیقات و فناوری و تحصیلات تکمیلی دانشگاه اصفهان در راستای انجام این پروژه، از کلیه‌ی بیماران محترم، بیمارستان سیدالشهدا (ع) اصفهان به خاطر در اختیار قرار دادن اطلاعات پزشکی و نمونه‌ی خون بیماران و خانم الهه جان‌نثاری به خاطر یاری ایشان در جمع‌آوری نمونه‌ها و کلیه‌ی افرادی که به صورت مادی و معنوی در انجام این پژوهش یاری رساندند، تشکر و قدردانی می‌گردد.

References

1. Sameer AS, Abdullah S, Banday MZ, Syeed N, Siddiqi MA. Colorectal cancer, TGF-signaling and SMADs Colorectal cancer, TGF-signaling and SMADs. Int J Genet Mol Biol 2010; 2(6): 101-11.
2. Esna-Ashari F, Sohrabi MR, Abadi AR, Mehrabian AA, Mofid B, Bohluli M, et al. Colorectal cancer prevalence according to survival data in Iran-2007. Iran J Cancer Prev 2009; 2(1): 15-8.
3. Hendriks YM, de Jong AE, Morreau H, Tops CM, Vasen HF, Wijnen JT, et al. Diagnostic approach and management of Lynch syndrome (hereditary nonpolyposis colorectal carcinoma): a guide for clinicians. CA Cancer J Clin 2006; 56(4): 213-25.
4. Li M, Wang J, Yang L, Gao P, Tian QB, Liu DW. eRF3b, a biomarker for hepatocellular carcinoma, influences cell cycle and phosphoralation status of 4E-BP1. PLoS One 2014; 9(1): e86371.
5. Bertram G, Bell HA, Ritchie DW, Fullerton G, Stansfield I. Terminating eukaryote translation: domain 1 of release factor eRF1 functions in stop codon recognition. RNA 2000; 6(9): 1236-47.
6. Ito K, Frolova L, Seit-Nebi A, Karamyshev A, Kisselev L, Nakamura Y. Omnipotent decoding potential resides in eukaryotic translation termination factor eRF1 of variant-code organisms and is modulated by the interactions of amino acid sequences within domain 1. Proc Natl Acad Sci U S A 2002; 99(13): 8494-9.
7. Kisselev L, Ehrenberg M, Frolova L. Termination of translation: interplay of mRNA,

rRNAs and release factors? EMBO J 2003; 22(2): 175-82.
8. Frolova L, Le G, X, Zhouravleva G, Davydova E, Philippe M, Kisselev L. Eukaryotic polypeptide chain release factor eRF3 is an eRF1- and ribosome-dependent guanosine triphosphatase. RNA 1996; 2(4): 334-41.
9. Nakamura Y, Ito K, Isaksson LA. Emerging understanding of translation termination. Cell 1996; 87(2): 147-50.
10. Hoshino S, Miyazawa H, Enomoto T, Hanaoka F, Kikuchi Y, Kikuchi A, et al. A human homologue of the yeast GST1 gene codes for a GTP-binding protein and is expressed in a proliferation-dependent manner in mammalian cells. EMBO J 1989; 8(12): 3807-14.
11. Hoshino S, Imai M, Mizutani M, Kikuchi Y, Hanaoka F, Ui M, et al. Molecular cloning of a novel member of the eukaryotic polypeptide chain-releasing factors (eRF). Its identification as eRF3 interacting with eRF1. J Biol Chem 1998; 273(35): 22254-9.
12. Chauvin C, Salhi S, Jean-Jean O. Human eukaryotic release factor 3a depletion causes cell cycle arrest at G1 phase through inhibition of the mTOR pathway. Mol Cell Biol 2007; 27(16): 5619-29.
13. Chai BF, Wang W, Liang AH. Expression, characterization and immunolocalization of translation termination factor eRF3 in the ciliate Euplotes octocarinatus. Res Microbiol 2006; 157(3): 235-40.
14. Frischmeyer PA, Dietz HC. Nonsense-mediated mRNA decay in health and disease. Hum Mol Genet 1999; 8(10): 1893-900.
15. Hentze MW, Kulozik AE. A perfect message: RNA surveillance and nonsense-mediated decay. Cell 1999; 96(3): 307-10.
16. Hegde R, Srinivasula SM, Datta P, Madesh M, Wassell R, Zhang Z, et al. The polypeptide chain-releasing factor GSPT1/eRF3 is proteolytically processed into an IAP-binding protein. J Biol Chem 2003; 278(40): 38699-706.
17. Lee JA, Park JE, Lee DH, Park SG, Myung PK, Park BC, et al. G1 to S phase transition protein 1 induces apoptosis signal-regulating kinase 1 activation by dissociating 14-3-3 from ASK1. Oncogene 2008; 27(9): 1297-305.
18. Riggins GJ, Lokey LK, Chastain JL, Leiner HA, Sherman SL, Wilkinson KD, et al. Human genes containing polymorphic trinucleotide repeats. Nat Genet 1992; 2(3): 186-91.
19. Malta-Vacas J, Ferreira P, Monteiro C, Brito M. Differential expression of GSPT1 GGCn alleles in cancer. Cancer Genet Cytogenet 2009; 195(2): 132-42.
20. Brito M, Malta-Vacas J, Carmona B, Aires C, Costa P, Martins AP, et al. Polyglycine expansions in eRF3/GSPT1 are associated with gastric cancer susceptibility. Carcinogenesis 2005; 26(12): 2046-9.
21. Miri M, Hemati S, Safari F, Tavassoli M. GGCn polymorphism of eRF3a/GSPT1 gene and breast cancer susceptibility. Med Oncol 2012; 29(3): 1581-5.

Journal of Isfahan Medical School
Received: 07.09.2014
Vol. 32, No. 311, 4th Week, January 2015
Accepted: 23.11.2014

The Study of GGC Repeat Polymorphism in Exon 1 of GSPT1/eRF3 Gene and its Association with the Risk of Colorectal Cancer

Zahra Usefzadeh[1], Manoochehr Tavassoli PhD[2], Simin Hemati MD[3], Forouzan Safari[4]

Original Article

Abstract

Background: Colorectal cancer is the third leading cause of cancer deaths in men and the fourth in women in Iran. Eukaryotic release factor 3 (eRF3) is a GTPase associated with eRF1 in a complex that mediates translation termination in eukaryotes. Apart from its role in translation termination, the eukaryotic translation release factor 3 (eRF3) is involved in several critical cellular processes, such as cell cycle regulation and is essential for the G1 to S phase transition of the cell cycle (GSPT1), cytoskeleton organization, mRNA decay, recycle of ribosomes and apoptosis. Data from two previous studies on polymorphic GGC repeats located in exon 1 of the GSPT1/eRF3 gene suggest that this polymorphic site may play a role in cancer susceptibility.

Methods: In this research, we studied the GGC repeat polymorphism in GSPT1/eRF3 gene among 153 patients with colorectal cancer and 280 healthy controls in Isfahan region, Iran. The GGC expansion was amplified via polymerase chain reaction (PCR) method and alleles in variable sizes were selected via polyacrylamide gel and sequenced directly. These sequenced alleles were used as allele specific markers.

Findings: Four different lengths of the GGC repeat in the range of 7, 10, 11, and 12 were observed. The most common genotype in controls and patients was homozygous with allele length of 10. A direct correlation was found between the presence of the 12-Gly allele of this gene and development of colorectal cancer (OR = 2.66, P = 0.04). There was a strong association between the allelic lengths of eRF3/GSPT1 polymorphism and family history of colorectal cancer, too (OR = 10.7, P = 0.0001).

Conclusion: Our primary data demonstrate that people carrying allele of 12 GGC, especially 11/12 and 12/12 genotypes are at significantly higher risk of developing colorectal cancer.

Keywords: Colorectal cancer, Polymorphism, Eukaryotic release factor 3 (eRF3)

Citation: Usefzadeh Z, Tavassoli M, Hemati S, Safari F. **The Study of GGC Repeat Polymorphism in Exon 1of GSPT1/eRF3 Gene and its Association with the Risk of Colorectal Cancer.** J Isfahan Med Sch 2015; 32(311): 2006-14

1- Student, Department of Biology, School of Science, University of Isfahan, Isfahan, Iran
2- Associate Professor, Department of Biology, School of Science, University of Isfahan, Isfahan, Iran
3- Assistant Professor, Department of Radiotherapy, School of Medicine, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran
4- Laboratory Assistant, Department of Biology, School of Science, University of Isfahan, Isfahan, Iran
Corresponding Author: Manoochehr Tavassoli PhD, Email: manoochehr@biol.ui.ac.ir