

مطالعه‌ی ارتباط بین پلی‌مورفیسم A/G در ناحیه‌ی اینترونی ژن FGFR₂ و سرطان پستان

دکتر مجید متولی باشی^۱، مهسا غلام‌پور^۲

مقاله پژوهشی

چکیده

مقدمه: گیرنده‌ی عامل رشد فیبروبلاستی_۲ (FGFR₂ یا Fibroblast growth factor receptor₂) یک گیرنده‌ی تیروزین کینازی است که نقشی مهمی در رشد و تمایز سلول‌ها بر عهده دارد. بر اساس مطالعات همراهی ژن FGFR₂ به عنوان ژن مستعد به سرطان پستان می‌باشد. پلی‌مورفیسم rs1219648 در ناحیه‌ی اینترونی ژن، ارتباط آماری قابل توجهی را با سرطان پستان نشان می‌دهد. FGFR₂ در ۱۵-۱۰ درصد از تومورهای پستان افزایش بیان می‌یابد. SNPs (Single-nucleotide polymorphisms) موجود در این ناحیه در افزایش بیان FGFR₂ نقش دارند. در مطالعه‌ی حاضر، ارتباط بین پلی‌مورفیسم rs1219648 در ناحیه‌ی اینترونی ژن FGFR₂ با سرطان پستان مورد بررسی قرار گرفت.

روش‌ها: مطالعه‌ی حاضر بر روی ۸۰ بیمار و ۱۰۰ نفر از افراد سالم (گروه شاهد) انجام شد. پس از استخراج DNA از خون، توالی معین توسط تکنیک Tetra primer ARMS-PCR (Tetra primer amplification-refractory mutation system-polymerase chain reaction) تکثیر گردید و ژنوتیپ پلی‌مورفیسم C/T به وسیله‌ی الکتروفورز بر روی ژل آگارز به دست آمد.

یافته‌ها: افراد دارای ژنوتیپ G/G و G/A زمینه‌ی بیشتری برای ابتلا به سرطان پستان دارند (OR = ۵/۳۲ و P = ۰/۰۱۸). با این که فراوانی آلی G در افراد مورد نسبت به افراد شاهد افزایش یافت؛ اما این افزایش ارتباط معنی‌داری با سرطان پستان نشان نداد (P = ۰/۲۳۰).

نتیجه‌گیری: به نظر می‌رسد که پلی‌مورفیسم تک نوکلئوتیدی G/A در ناحیه‌ی اینترونی ژن گیرنده‌ی تیروزین کینازی FGFR₂ در استعداد سرطان پستان می‌تواند به عنوان عامل خطر ایفای نقش کند.

واژگان کلیدی: سرطان پستان، پلی‌مورفیسم تک نوکلئوتیدی، ژن Fibroblast growth factor receptor₂

ارجاع: متولی باشی مجید، غلام‌پور مهسا. مطالعه‌ی ارتباط بین پلی‌مورفیسم A/G در ناحیه‌ی اینترونی ژن FGFR₂ و سرطان پستان. مجله دانشکده پزشکی اصفهان ۱۳۹۳؛ ۳۲ (۲۷۹): ۳۶۷-۳۵۹

مقدمه

سرطانی وجود دارند، اما در بافت‌های چربی پستان پخش نشده‌اند. به این مرحله کارسینومای درجا نیز گفته می‌شود. سرطان پستان تهاجمی به چهار مرحله تقسیم می‌شود. در مرحله‌ی اول و دوم اندازه‌ی تومور کوچک و احتمال درگیری گره‌های لنفاوی کم است.

سرطان پستان در نتیجه‌ی تجمع آسیب‌های ژنتیکی در سلول‌های اپیتلیال بافت سازنده‌ی شیر و کسب فنوتیپ‌های بدخیم توسط این سلول‌ها بروز می‌کند (۱). در مراحل اولیه‌ی سرطان پستان، سلول‌های

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

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

ارگان‌زایی، تمایز سلول، رگ‌زایی (Angiogenesis) و پیشرفت تومور دارند (۸).

عوامل رشد فیبروبلاستی مختلف و گیرنده‌های مرتبط با آن‌ها بیان ویژه‌ی بافتی دارند (۴). الگوی بیان ویژه‌ی بافتی و تمایز در اتصال، میان‌کنش اختصاصی گیرنده- لیگاند را نشان می‌دهد. این اختصاصیت همچنان توسط پیرایش (Splicing) تنظیم می‌شود (۴). گیرنده‌ها در حالت عادی در بافت‌ها بیان می‌شوند و در رشد سلولی، تمایز و تکامل تعدادی از بافت‌ها از جمله پستان و کلیه نقش دارند (۹).

این خانواده‌ی گیرنده، دارای چهار عضو می‌باشد. ۴ ژن در موقعیت‌های مختلف کروموزومی شناسایی می‌شوند که پروتئین‌های مشابه خانواده‌ی FGFR را کد می‌کنند. گیرنده‌ی پنجم FGFR⁵ با عنوان FGFR¹ شناسایی شده است که توانایی اتصال به FGF را دارد، اما فاقد قسمت تیروزین کینازی است و به طور منفی سیگنال را تنظیم می‌کند (۱۰).

FGFRها در سرطان‌زایی نقش دارند و در تحقیقات اخیر برای اهداف دارویی در سرطان پستان مورد بررسی قرار گرفته‌اند و از طریق چندین مکانیسم باعث ایجاد بدخیمی‌ها و تکثیر تومور می‌شوند. در بیشتر موارد تکثیر ژن‌ها، افزایش بیان یا موتاسیون گیرنده‌های تیروزین کیناز باعث سرطانی شدن می‌شود (۱۱-۱۰). با تغییر در سطح FGFRها در اثر موتاسیون نقطه‌ای، بیان افزایش می‌یابد و یا پیرایش (Splicing) متفاوت باعث تغییر سیگنال FGFR می‌شود و در تومورهای متنوعی از انسان شناسایی شده است (۱۲). برای مثال، افزایش بیان FGFR در تعدادی از بافت‌ها شامل پستان، پروستات،

در مرحله‌ی سوم، سلول‌های سرطانی به غدد لنفاوی رسیده‌اند، اما به بخش‌های دیگر بدن منتشر نشده‌اند. در مرحله‌ی چهارم که به مرحله‌ی متاستازی معروف است، سلول‌های سرطانی به بافت‌های دیگر بدن پخش می‌شوند (۲).

این سرطان شایع‌ترین سرطان در جوامع توسعه یافته و در حال توسعه است و یکی از فراوان‌ترین انواع بدخیمی‌ها در بین زنان ایران می‌باشد که نرخ بروز آن در حال افزایش است. در تومورهای سرطانی، مکانیسم‌های مولکولی و فرایندهای آنکوژنی مختلف نقش دارند. اختلال در مسیرهای سلولی باعث بروز سرطان می‌شود (۳).

گیرنده‌های عامل رشد فیبروبلاستی (FGFR یا Fibroblast growth factor receptor) از جمله گیرنده‌های تیروزین کینازی می‌باشند. ساختار این گیرنده‌ها دارای یک قسمت متصل شونده به لیگاند خارج سلولی، یک قسمت عبوری از غشا و یک قسمت درون سلولی تیروزین کینازی است. قسمت خارج سلولی از سه لوپ ایمونوگلوبولین و یک بخش اسیدی تشکیل شده است (۶-۴). با اتصال عوامل رشد فیبروبلاستی به گیرنده و دیمریزاسیون آن، چندین مسیر سیگنالی در پایین دست فعال می‌شوند. مهم‌ترین مسیرهای فعال شده، K3PI (Phosphoinositide ۳-kinase) و نیز RAS-MAPK (RAS/mitogen activated protein kinase) هستند که با انتقال سیگنال باعث فعال شدن عوامل رونویسی می‌شوند (۷).

ترکیب FGF، FGFR (Fibroblast growth factor) و پروتئین‌های آداپتور یک شبکه‌ی سیگنالینگ پیچیده را ایجاد می‌کنند که نقش‌های اساسی در تکامل،

فرد سالم (گروه شاهد) انجام گرفت. بیماران همه از ساکنین استان اصفهان بودند که جهت درمان به بیمارستان مراجعه نموده بودند. بعد از تکمیل فرم رضایت‌نامه توسط بیماران، بر اساس پرونده‌های مطالعه شده و تکمیل پرسش‌نامه، اطلاعات اولیه شامل سن، تعداد فرزندان، مرحله‌ی سرطان و مرحله‌ی متاستاز جمع‌آوری گردید. محدوده‌ی سنی بیماران حدود 48 ± 3 سال بود. تمام بیماران زنانی با حداقل یک بار حاملگی بودند، در نتیجه از نظر جنسیت و سایر شرایط اختلاف چندانی با هم نداشتند.

استخراج DNA

حدود ۵۰۰ میکرولیتر خون به ویال‌های ۱/۵ میلی‌لیتری استریل منتقل و با روش رسوب نمکی Miller و با کمی تغییرات DNA ژنومی استخراج گردید (۱۹). رسوب DNA در ۵۰ میکرولیتر بافر TE حل شد و سپس با استفاده از روش اسپکتروفوتومتری و الکتروفورز روی ژل آگارز تعیین غلظت گردید.

تعیین ژنوتیپ SNP ژن FGFR2

تعیین ژنوتیپ با روش Tetra primer ARMS-PCR (Tetra primer amplification-refractory mutation system-polymerase chain reaction) انجام شد. در این تکنیک، ۴ نوع پرایمر با استفاده از نرم‌افزار OLIGO طراحی شد (جدول ۱). طول پرایمرها و دمای اتصال هر ۴ پرایمر توسط این نرم‌افزار مورد بررسی قرار گرفت. مناسب‌ترین توالی پرایمرها که طول و دمای نزدیک به هم داشتند، انتخاب شدند تا به صورت همزمان در واکنش PCR عمل کنند. به منظور بررسی اختصاصیت هر جفت پرایمر و عدم اتصال آن به قسمت‌های دیگر ژنوم از برنامه‌ی Blast استفاده گردید.

ملانوما و تیروئید مشاهده شده است (۱۱). FGFR2 در ۱۵-۱۰ درصد از تومورهای پستان افزایش بیان می‌یابد (۱۳). همچنین بر اساس مطالعات انجام شده، بیان FGFR2 در رده‌ی سلولی سرطان پستان نسبت به رده‌ی سلولی بافت طبیعی پستان ۴۰ برابر افزایش می‌یابد (۱۴). بر اساس مطالعات صورت گرفته، FGFR2 به عنوان یک ژن مستعد در سرطان پستان شناسایی شده و ژن کد کننده‌ی آن در ناحیه‌ی ۱۰q۲۶ قرار گرفته است که واجد ۲۲ اگزون و ۲۱ اینترون می‌باشد (۱۵-۱۶). چندین SNP (Single-nucleotide polymorphisms) در ناحیه‌ی اینترون ۲ ژن FGFR2 یافت شده است که همراهی زیادی با خطر ابتلا به سرطان پستان نشان می‌دهند (۱۷-۱۶، ۴).

تحقیقات نشان داده است که توالی اینترون ۲ یک ناحیه‌ی تنظیمی است و SNPها، سایت‌های اتصال عوامل رونویسی را تغییر می‌دهند و سطح بیان FGFR2 را تنظیم می‌کنند. تفاوت در تمایل اتصال عوامل رونویسی می‌تواند باعث افزایش بیان FGFR2 گردد (۱۸، ۴). به دلیل ارتباط پلی‌مورفیسم rs۱۲۱۹۶۴۸ با خطر ابتلا به سرطان پستان در مطالعات قبلی و این که این پلی‌مورفیسم در جمعیت ایرانی مورد مطالعه قرار نگرفته بود، این پلی‌مورفیسم انتخاب شد. در مطالعه‌ی حاضر برای اولین بار در ایران ارتباط بین پلی‌مورفیسم rs۱۲۱۹۶۴۸ در اینترون ۲ ژن FGFR2 با خطر ابتلا به سرطان پستان در جمعیت اصفهان مورد بررسی قرار گرفت.

روش‌ها

مطالعه‌ی حاضر از نوع مورد-شاهد و بازگشت به گذشته روی ۸۰ بیمار مبتلا به سرطان پستان و ۱۰۰

سانتی‌گراد انجام پذیرفت. پس از پایان چرخه‌های تکثیر محصولات PCR بر روی ژل آگارز ۱/۵ درصد و ولتاژ ۸۰ ولت، الکتروفورز شدند. برای محاسبات آماری از روش مطالعه‌ی مورد-شاهد استفاده شد. در این نوع مطالعه، افراد بیمار از جمعیت انتخاب می‌شوند و یک گروه شاهد مناسب بدون بیماری هم انتخاب می‌شوند. ژنوتیپ افراد دو گروه تعیین می‌شود و همراهی بین بیماری و ژنوتیپ با نسبت احتمال (OR یا Odds ratio) محاسبه می‌شود. برای آنالیز آماری نتایج از نرم‌افزار SPSS نسخه‌ی ۱۹ (version 19, SPSS Inc., Chicago, IL) استفاده شد.

یافته‌ها

ژنوتیپ پلی مورفیسم ژن FGFR₂ ۸۰ بیمار مبتلا به سرطان پستان و ۱۰۰ فرد سالم توسط تکنیک Tetra primer ARMS-PCR و سپس ژنوتیپ افراد بر اساس الکتروفورز محصول PCR بر روی ژل آگارز مشخص شد. افراد هتروزیگوت قطعات به طول مورد انتظار حدود ۱۷۸ و ۲۸۷ جفت بازی به همراه باند شاهد ۴۲۳ جفت بازی ایجاد کردند؛ در صورتی که افراد دارای آلل مغلوب، دو باند ۲۸۷ و ۴۲۳ جفت بازی را روی ژل الکتروفورز نشان دادند (شکل ۱).

پرایمر IF و OR باعث تکثیر آلل T و ایجاد بانندی به طول ۱۷۸ بر روی ژل آگارز می‌شود. همچنین آلل C توسط پرایمرهای OF و IR تکثیر و باند ۲۸۷ جفت بازی ایجاد می‌کند. از این طریق، افراد هتروزیگوت و هموزیگوت قابل شناسایی هستند. پرایمرهای OF و OR به عنوان شاهد مثبت بانندی به طول ۴۲۳ جفت بازی پس از PCR و الکتروفورز ایجاد می‌کنند.

مواد لازم برای واکنش PCR در حجم ۲۵ میکرولیتر عبارت از ۱۰۰ نانوگرم DNA به عنوان الگو، ۵ پیکومول از پرایمر (OR یا OF و OR یا IF) ۲/۵ میکرولیتر بافر ۱۰X PCR، ۱ میکرولیتر MgCl₂ ۵۰ میلی‌مولار، ۰/۵ میکرولیتر dNTP (Deoxynucleotide triphosphates) ۱۰ میلی‌مولار و ۰/۳ میکرولیتر آنزیم DNA پلی‌مراز Taq بودند.

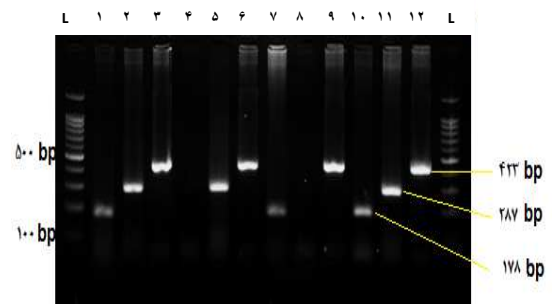
تکثیر DNA در دستگاه ترموسایکلر مدل Eppendorf آلمان با شرایط دمایی ۹۵ درجه‌ی سانتی‌گراد به مدت ۳ دقیقه و سپس ۳۵ سیکل به ترتیب با دمای داتوره‌ی ۹۵ درجه‌ی سانتی‌گراد به مدت ۳۰ ثانیه، دمای چسبیدن ۶۱ درجه‌ی سانتی‌گراد برای پرایمرها به مدت ۳۵ ثانیه، دمای تکثیر ۷۲ درجه‌ی سانتی‌گراد به مدت ۴۰ ثانیه و در نهایت ۱۰ دقیقه جهت تکثیر نهایی در دمای ۷۲ درجه‌ی

جدول ۱. توالی پرایمرهای طراحی شده برای ژن FGFR₂

نام آغازگر	توالی نوکلئوتیدی (۵' > ۳')	اندازه‌ی محصول
IF (آغازگر رفت آلل T)	CATGGCCATCCTTGAAGgGT	۱۷۸ جفت باز
OR (آغازگر برگشت آلل T)	GCCTTGGCTATTTCAGAGGCTAAG	۱۷۸ جفت باز شاهد مثبت
OF (آغازگر رفت آلل C)	CATGATGTGGCCAAAGTCCAC	۲۸۷ جفت باز ۴۲۳ جفت باز
IR (آغازگر برگشت آلل C)	CGCCTATTTTACTTGACACcCG	۲۸۷ جفت باز

($P = 0/230$). اطلاعات مربوط به فراوانی آللی در جدول ۲ آمده است. در این مطالعه، نسبت ژنوتیپ‌های حداقل دارای یک آلل G با افراد فاقد این آلل مقایسه شد. خطر ابتلا به سرطان پستان در بیماران حامل ژنوتیپ‌های G/G + G/G حدود ۵ برابر بود ($P = 0/018$ و $OR = 5/32$) (جدول ۳).

بر اساس آنالیزهای آماری ۵۶ درصد از بیماران بررسی شده در مرحله‌ی ۱ و ۲ و حدود ۳۶ درصد در مرحله‌ی ۳ از سرطان پستان بودند و تنها ۸ درصد بیماران (۴ بیمار) در مرحله‌ی متاستاز بودند. به دلیل فراوانی پایین بیماران متاستازی، ارتباط پلی مورفیسم با متاستاز بررسی نشد. از آن جایی که در شهرهای بزرگ به دلیل بهداشت و رسیدگی، سرطان پستان قبل از متاستاز تشخیص داده می‌شود و در حال کنترل می‌باشد، در نتیجه در جمعیت مورد بررسی تعداد بیماران متاستازی بسیار کم بود. در این مطالعه احتمال ارتباط پلی مورفیسم با متاستاز وجود نداشت.



شکل ۱. محصول Tetra primer ARMS-PCR

(Tetra primer amplification-refractory mutation)

system-polymerase chain reaction) روی ژل آگارز، ۱، ۲ و ۳: نمونه‌ی فرد هتروزیگوت. ۴، ۵ و ۶: نمونه‌ی فردی با ژنوتیپ مغلوب، ۷، ۸ و ۹: نمونه‌ی فرد با ژنوتیپ غالب، ۱۰، ۱۱ و ۱۲: نمونه‌ی فرد هتروزیگوت. الکتروفورز با شرایط ۱/۵ درصد غلظت آگارز با ولتاژ ۸۰ و آمپر ثابت به مدت ۴۰ دقیقه انجام گرفت.

پس از تعیین فراوانی ژنوتیپ‌ها و فراوانی آلل‌ها برای پلی مورفیسم مورد مطالعه، مقدار χ^2 محاسبه شد. بر اساس میزان χ^2 محاسبه شده و مقایسه‌ی آن با جدول احتمال، نمونه‌ها و جمعیت مورد مطالعه متعادل در نظر گرفته شدند. ارتباط آماری معنی‌داری بین آلل‌های A و G و سرطان پستان مشاهده نشد.

جدول ۲. فراوانی آللی FGFR2 و ارتباط آن با سرطان پستان

مقدار P	کل		شاهد		مورد		آلل
	تعداد	فراوانی آللی	تعداد	فراوانی آللی	تعداد	فراوانی آللی	
0/230	186	0/52	109	0/545	77	0/48	A
	174	0/48	91	0/455	83	0/52	G

جدول ۳. فراوانی ژنوتیپ FGFR2 در افراد گروه‌های مورد و شاهد

مقدار P	شاهد تعداد (درصد)	مورد تعداد (درصد)	OR (95% CI)	ژنوتیپ
a = 0/018	12 (12/0)	2 (2/5)	a = 5/32 (1/28-21/8)	AA
b = 0/470	85 (85/0)	73 (91/2)	b = 2/17 (0/55-8/42)	AG
	3 (3/0)	5 (6/3)		GG

a: ژنوتیپ G/G + A/G در مقایسه با ژنوتیپ A/A، b: ژنوتیپ G/G در مقایسه با ژنوتیپ A/G + A/A

OR: Odds ratio; CI: Confidence interval

بحث

امروزه در درمان سرطان به فرایندها و مکانیسم‌های مولکولی که در سرطان‌زایی دخیلند، توجه می‌شود. برای به کارگیری درمان‌های جدید، شناسایی این مکانیسم‌ها مورد نیاز است. FGFRها در سرطان‌زایی نقش دارند و در مطالعات اخیر برای اهداف دارویی در سرطان پستان مورد بررسی قرار گرفته‌اند.

در بین بیماران مبتلا به سرطان پستان، تکثیر FGFR2 مشاهده شده است. این گیرنده در چندین فرایند شامل تکثیر، رگ‌زایی و مهاجرت سلول‌ها نقش دارد (۱۰، ۴). سلول‌هایی که بیان بالایی از FGFR2 دارند، تنوع در توالی ایترون ۲ که محل اتصال عوامل رونویسی است، نشان می‌دهند (۵).

توالی ایترون ۲ یک ناحیه‌ی تنظیمی است. SNPها سایت‌های اتصال عوامل رونویسی را تغییر می‌دهند و در نتیجه، سطح بیان FGFR2 را تنظیم می‌کنند. تفاوت در تمایل اتصال عوامل رونویسی، باعث افزایش بیان FGFR2 با آللهایی با خطر بالا می‌شود (۴). افزایش بیان FGFR2 باعث افزایش سیگنال پایین دست می‌گردد. بنابراین، مسیرهایی که در تکثیر سلولی، تمایز، مهار آپوپتوز و مهاجرت نقش دارند، فعال می‌شوند.

در مطالعه‌ی حاضر که برای اولین بار در ایران صورت گرفت، فراوانی آللی و ژنوتیپ‌های پلی مورفیسم rs1219648 در جمعیت اصفهان محاسبه شد. بر اساس نتایج به دست آمده، ارتباط معنی‌داری بین این پلی مورفیسم و سرطان پستان وجود ندارد ($P = 0/230$ و $X^2 = 5/6$). در صورتی که ژنوتیپ افراد بیمار دارای آلل خطر G (G/G + A/G) با سرطان پستان همراهی نشان می‌دهد ($X^2 = 5/6$ و

$P = 0/018$). در مطالعات قبلی توسط Hunter ارتباط چهار پلی مورفیسم rs1219648، rs2420946، rs11200014 و rs2981579 در این ناحیه‌ی ژن FGFR2 در جمعیت اروپایی با سرطان پستان مشخص شد (۱۶). همچنین، پلی مورفیسم rs1219648 در ناحیه‌ی ایترون ۲ (FGFR2) در جمعیت‌های دیگر از جمله آسیایی (۲۰) و اسرائیلی (۱۵) نیز با سرطان پستان همراهی نشان دادند.

در همه‌ی مطالعات پیشین، ژنوتیپ مینور با سرطان پستان همراهی نشان می‌دهد. در صورتی که در مطالعه‌ی حاضر ژنوتیپ مینور به تنهایی ارتباط معنی‌داری با سرطان پستان نداشت ($P = 0/470$)؛ اما ژنوتیپ افراد بیمار دارای آلل خطر G (G/G + A/G) با سرطان پستان همراهی نشان داد ($P = 0/018$ و $OR = 5/32$) و ارتباط این پلی مورفیسم به صورت غالب است.

در مطالعه‌ی Zhang و همکاران، به صورت غالب و مغلوب بین پلی مورفیسم حاصل و سرطان پستان ارتباط مشاهده شد و این SNP به عنوان نشانگر مهم در سرطان پستان پیشنهاد شد (۲۱). مطالعات روی بیان FGFR2 نشان دادند که در سلول‌هایی با هاپلوتیپ‌های مینور، میزان بیان FGFR2 افزایش می‌یابد. به دلیل این که عوامل رونویسی oct1/Runx2 و C/EBPβ (proteinβCCAAT/enhancer binding) با تمایل بالاتری به آلل هموزیگوت مینور در ناحیه‌ی ایترون ۲ متصل می‌شوند و باعث افزایش بیان FGFR2 می‌شوند؛ افزایش بیان FGFR2 خطر ابتلا به سرطان پستان را افزایش می‌دهد (۲۲).

در مطالعه‌ی حاضر، افراد هموزیگوت و هتروزیگوت برای آلل خطر G همراه با هم با سرطان

از نواحی مختلف جمعیت ایرانی انتخاب شوند.

تشکر و قدردانی

از معاونین محترم پژوهشی و تحصیلات تکمیلی دانشگاه اصفهان و نیز سرکار خانم دکتر سیمین همتی متخصص انکولوژی بابت پشتیبانی مطالعه تشکر و قدردانی می‌گردد. همچنین، از بیماران مبتلا به سرطان پستان شرکت کننده در طرح و کارکنان زحمت‌کش بیمارستان سیدالشهدا (ع) اصفهان به دلیل همکاری در طرح سپاسگزاری می‌شود.

همراهی نشان می‌دهند. تفاوت نتایج این مطالعه با مطالعات قبلی می‌تواند به دلیل تفاوت در نقشه‌ی ژنتیکی جمعیت‌ها و همچنین، دخیل بودن عوامل دیگر باشد. نمونه‌های مورد مطالعه از یک ناحیه‌ی جمعیتی می‌باشد که به طور تصادفی انتخاب شده بودند و فراوانی افراد هتروزیگوت در جمعیت زیاد (۹۱/۲ درصد) بود و این امر باعث شد تا افراد هموزیگوت G/G ارتباط معنی‌داری با بیماری نشان ندهند. در صورتی که در مطالعات قبلی، جمعیت‌های خیلی بزرگ مورد بررسی قرار گرفته‌اند. برای به دست آوردن نتایج دقیق‌تر، بهتر است نمونه‌های مورد مطالعه

References

- Ghafoor A, Jemal A, Ward E, Cokkinides V, Smith R, Thun M. Trends in breast cancer by race and ethnicity. *CA Cancer J Clin* 2003; 53(6): 342-55.
- Singleary SE, Allred C, Ashley P, Bassett LW, Berry D, Bland KI, et al. Staging system for breast cancer: revisions for the 6th edition of the AJCC Cancer Staging Manual. *Surg Clin North Am* 2003; 83(4): 803-19.
- 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.
- Tenhagen M, van Diest PJ, Ivanova IA, van der Wall E, van der Groep P. Fibroblast growth factor receptors in breast cancer: expression, downstream effects, and possible drug targets. *Endocr Relat Cancer* 2012; 19(4): R115-R129.
- McLeskey SW, Ding IY, Lippman ME, Kern FG. MDA-MB-134 breast carcinoma cells overexpress fibroblast growth factor (FGF) receptors and are growth-inhibited by FGF ligands. *Cancer Res* 1994; 54(2): 523-30.
- Ornitz DM. FGFs, heparan sulfate and FGFRs: complex interactions essential for development. *Bioessays* 2000; 22(2): 108-12.
- Wesche J, Haglund K, Haugsten EM. Fibroblast growth factors and their receptors in cancer. *Biochem J* 2011; 437(2): 199-213.
- Kondo T, Zheng L, Liu W, Kurebayashi J, Asa SL, Ezzat S. Epigenetically controlled fibroblast growth factor receptor 2 signaling imposes on the RAS/BRAF/mitogen-activated protein kinase pathway to modulate thyroid cancer progression. *Cancer Res* 2007; 67(11): 5461-70.
- Martin AJ, Grant A, Ashfield AM, Palmer CN, Baker L, Quinlan PR, et al. FGFR2 protein expression in breast cancer: nuclear localisation and correlation with patient genotype. *BMC Res Notes* 2011; 4: 72.
- Turner N, Grose R. Fibroblast growth factor signalling: from development to cancer. *Nat Rev Cancer* 2010; 10(2): 116-29.
- Zwick E, Bange J, Ullrich A. Receptor tyrosine kinase signalling as a target for cancer intervention strategies. *Endocr Relat Cancer* 2001; 8(3): 161-73.
- Powers CJ, McLeskey SW, Wellstein A. Fibroblast growth factors, their receptors and signaling. *Endocr Relat Cancer* 2000; 7(3): 165-97.
- Rebbeck TR, DeMichele A, Tran TV, Panossian S, Bunin GR, Troxel AB, et al. Hormone-dependent effects of FGFR2 and MAP3K1 in breast cancer susceptibility in a population-based sample of post-menopausal African-American and European-American women. *Carcinogenesis* 2009; 30(2): 269-74.
- Tannheimer SL, Rehemtulla A, Ethier SP. Characterization of fibroblast growth factor receptor 2 overexpression in the human breast cancer cell line SUM-52PE. *Breast Cancer Res* 2000; 2(4): 311-20.

15. Raskin L, Pinchev M, Arad C, Lejbkowitz F, Tamir A, Rennert HS, et al. FGFR2 is a breast cancer susceptibility gene in Jewish and Arab Israeli populations. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 2008; 17(5): 1060-5.
16. Hunter DJ, Kraft P, Jacobs KB, Cox DG, Yeager M, Hankinson SE, et al. A genome-wide association study identifies alleles in FGFR2 associated with risk of sporadic postmenopausal breast cancer. *Nat Genet* 2007; 39(7): 870-4.
17. 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.
18. Sun C, Olopade OI, Di RA. rs2981582 is associated with FGFR2 expression in normal breast. *Cancer Genet Cytogenet* 2010; 197(2): 193-4.
19. 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.
20. Liang J, Chen P, Hu Z, Zhou X, Chen L, Li M, et al. Genetic variants in fibroblast growth factor receptor 2 (FGFR2) contribute to susceptibility of breast cancer in Chinese women. *Carcinogenesis* 2008; 29(12): 2341-6.
21. Zhang J, Qiu LX, Wang ZH, Leaw SJ, Wang BY, Wang JL, et al. Current evidence on the relationship between three polymorphisms in the FGFR2 gene and breast cancer risk: a meta-analysis. *Breast Cancer Res Treat* 2010; 124(2): 419-24.
22. Meyer KB, Maia AT, O'Reilly M, Teschendorff AE, Chin SF, Caldas C, et al. Allele-specific up-regulation of FGFR2 increases susceptibility to breast cancer. *PLoS Biol* 2008; 6(5): e108.

The Association of A/G Polymorphism in Intronic Region of FGFR2 Gene and Breast Cancer

Majid Motovali-Bashi PhD¹, Mahsa Gholampour²

Original Article

Abstract

Background: Fibroblast growth factor receptor 2 (FGFR2) is a receptor of tyrosine kinase with a pivotal role in the cell growth and differentiation. FGFR2 gene was identified as susceptibility gene for breast cancer by Genome-wide associated study. rs1219648 polymorphisms in intronic region are associated with breast cancer. FGFR2 gene is amplified in 15-10% of breast tumors. Single-nucleotide polymorphisms (SNPs) of this region are involved in FGFR2 amplification. In this study, the association of rs1219648 in intron 2 region of FGFR2 gene and breast cancer was assessed.

Methods: In the present study, 80 cases of breast cancer and 100 healthy controls were studied. After DNA extraction from blood, specific sequence was amplified by tetra primer ARMS-PCR (amplification-refractory mutation system-polymerase chain reaction) technique and genotype of C/T polymorphism was determined by agarose gel electrophoresis.

Findings: Individuals with G/G and A/G genotype were at a significantly higher risk of breast cancer (OR = 5.32, P = 0.018). G allele frequency in case patients were greater than controls but this increase did not show significant relationship with breast cancer (P = 0.230).

Conclusion: Single nucleotide polymorphism of G/A in intron 2 of the FGFR2 tyrosine kinase receptor gene may play a role as a risk factor for breast cancer susceptibility.

Keywords: Breast cancer, Single nucleotide polymorphism, FGFR2 gene

Citation: Motovali-Bashi M, Gholampour M. **The Association of A/G Polymorphism in Intronic Region of FGFR2 Gene and Breast Cancer.** J Isfahan Med Sch 2014; 32(279): 359-67

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

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

Corresponding Author: Majid Motovali-Bashi PhD, Email: mbashi@sci.ui.ac.ir