مجله دانشکده پزشکی اصفهان
سال سی‌ام/شماره ۲۲۱/هفته سوم اسفند ماه ۱۳۹۱

تاریخ دریافت: ۱۳۹۱/۸/۲۹
تاریخ پذیرش: ۱۳۹۱/۱۱/۵

فاکتور آزاد کننده‌ی یوکاریوتی شماره‌ی ۳ و احتمال ابتلا به سرطان پستان

محبوبه میری[۱]، دکتر منوچهر توسلی[۲]، دکتر سیمین همتی[۳]

مقاله پژوهشی

چکیده

مقدمه: شواهد متعددی از وجود نقش عوامل ترجمه‌ی یوکاریوتی در ایجاد سرطان پستان حمایت می‌کنند. پروتئین eRF3 (فاکتور آزاد کننده‌ی یوکاریوتی شماره‌ی ۳)، به عنوان یک عامل جداکننده‌ی زنجیره‌ی پلی‌پپتیدی در فرایند ترجمه شناخته شده است و برای گذر سلول‌ها از فاز G1 به فاز S سیکل سلولی (G1 to S phase transition protein 1 یا GSPT1) نیز ضروری است. مطالعات اخیر حاکی از نقش احتمالی این پروتئین در ایجاد سرطان می‌باشد. هدف پژوهش حاضر، بررسی پلی‌مورفیسم تکرار سه گانه‌ی GGC در اگزون شماره‌ی ۱ ژن eRF3a/GSPT1، و ارتباط آن با خطر ابتلا به سرطان پستان در جمعیت اصفهان بود.

روش‌ها: طی این پژوهش که بر روی ۲۵۰ زن مبتلا به سرطان پستان و ۲۵۰ زن سالم انجام شد، پس از استخراج DNA از خون محیطی، توالی مورد نظر توسط روش واکنش زنجیره‌ای پلی‌مراز (Polymerase chain reaction یا PCR) تکثیر گردید و در نهایت پلی‌مورفیسم ژن eRF3a با الکتروفورز قطعات تکثیرشده بر روی ژل پلی‌اکریل‌آمید مشخص شد.

یافته‌ها: با بررسی پلی‌مورفیسم آللی ژن eRF3a/GSPT1 در جمعیت مورد نظر، ۴ آلل شامل آلل‌های ۷، ۱۰، ۱۱ و ۱۲ تکرار از GGC در اگزون شماره‌ی ۱ این ژن یافت شد. بیشترین فراوانی آللی در هر دو گروه بیمار و شاهد مربوط به $(GGC)_{10}$ بود. نتایج این تحقیق نشان داد که زنان حامل آلل ۱۲ تکرار و نیز زنانی که برای آلل $(GGC)_{7}$ از ژن مورد مطالعه هموزیگوت هستند، شانس بیشتری برای ابتلا به سرطان پستان دارند.

نتیجه‌گیری: در این تحقیق برای اولین بار در ایران، الگوی پراکندگی، فراوانی آللی و همچنین ژنوتیپ‌های مختلف ژن eRF3a/GSPT1 مشخص گردید. به علاوه یافته‌ها نشان داد که در جمعیت اصفهان، وجود طویل‌ترین آلل و کوتاه‌ترین آلل (به صورت هموزیگوت) از ژن مزبور می‌تواند خطر ابتلا به سرطان پستان را در این جمعیت افزایش دهد.

واژگان کلیدی: سرطان پستان، فاکتور آزاد کننده‌ی یوکاریوتی شماره‌ی ۳، توالی تکراری GGC، پلی‌مورفیسم

ارجاع: میری محبوبه، توسلی منوچهر، همتی سیمین. **فاکتور آزاد کننده‌ی یوکاریوتی شماره‌ی ۳ و احتمال ابتلا به سرطان پستان.** مجله دانشکده پزشکی اصفهان ۱۳۹۱؛ ۳۰ (۲۲۱): ۲۴۷۵-۲۴۶۷

مقدمه

سرطان پستان که لایه‌ی داخلی غدد یا مجاری شیری بافت پستان را درگیر می‌کند، شایع‌ترین نوع سرطان در بین زنان دنیا است؛ به طوری که از هر ۱۱ زن، یک نفر در طول زندگی خود به این نوع سرطان مبتلا می‌شود (۱). با وجود این که انتظار می‌رود نرخ بروز سرطان پستان در ایران همانند سایر کشورهای آسیایی پایین باشد، اما افزایش این نرخ طی چهار دهه ی اخیر

* این مقاله حاصل پایان‌نامه‌ی دوره‌ی کارشناسی ارشد در دانشگاه اصفهان است.

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
نویسنده‌ی مسؤول: دکتر منوچهر توسلی
Email: manoochehrt@yahoo.com

نشان می دهد که این نوع سرطان یکی از فراوان ترین بدخیمی ها در بین زنان ایرانی است (۲). نرخ بروز سرطان پستان در بین زنان ایرانی ۱۲۰ نفر در هر ۱۰۰۰۰۰ نفر گزارش شده است. همچنین سن ابتلا به سرطان پستان در ایران بین ۸۵-۱۵ سال است که افراد ۴۹-۴۰ سال در این بین فراوان‌تر هستند (۳).

سرطان پستان از نظر ژنتیکبه عنوان یک بیماری پیچیده تلقی می شود و عقیده بر آن است که فنوتیپ بیماری ناشی از ارتباطات میان برخی ژن‌ها و عوامل محیطی است. شایع ترین ژن هایی که در بروز سرطان پستان دخالت دارند، شامل ژن های مسؤول ترمیم DNA، کنترل رشد و تقسیم سلول و یا کنترل مسیرهای انتقال پیام می‌باشند. شواهدی وجود دارد که از دخالت عوامل ترجمه ای در ایجاد انواع سرطان حمایت می کند، اما نقش این عوامل در ایجاد و پیشرفت سرطان ناشناخته مانده است. مطالعات نشان می دهند که چندین عامل دخیل در مراحل آغاز و طویل سازی ترجمه در انواع مختلفی از سرطان ها از جمله سرطان های پستان، پروستات و سمینومای بیضه افزایش بیان می‌یابند (۶-۴).

فرایند ختم ترجمه در سلول‌های یوکاریوتی توسط دو فاکتور eRF1 (فاکتور آزاد کننده‌ی یوکاریوتی شماره‌ی ۱) و eRF3 (فاکتور آزاد کننده‌ی یوکاریوتی شماره‌ی ۳) کنترل می‌شود. eRF1 وظیفه‌ی جداسازی زنجیره‌ی پلی پپتیدی تازه سنتز شده را بر عهده دارد و eRF3 به عنوان یک GTPase کوچک، عملکرد eRF1 را تقویت می‌کند (۷). eRF3 همچنین با پروتئین متصل شونده به انتهای polyA (که سبب پایداری mRNAها می‌شود) نیز برهم‌کنش می‌کند (۸). مطالعات اخیر نشان می‌دهد که احتمال دارد eRF3 در سایر فرایندهای سلولی همچون پیشرفت سیکل سلولی، اپوپتوز و سازمان دهی سیتواسکلتون نیز دخالت داشته باشد (۱۱-۹).

eRF3 در انسان دارای دو ایزوفرم مشخص به نام‌های eRF3a و eRF3b است. این دو پروتئین دارای ۸۷ درصد تشابه توالی هستند و اغلب تفاوت‌های آن‌ها به ناحیه‌ی انتهای آمینی مربوط می‌شود (۱۲). در شرایط In vivo حذف eRF3a مانع از فرایند ختم ترجمه می‌شود؛ در حالی که خاموشی ژن eRF3b اثر قابل ملاحظه ای ندارد. به علاوه، این حذف eRF3a است که سبب کاهش سطح درون سلولی پروتئین eRF1، به واسطه‌ی کاهش پایداری آن می‌گردد. این نتایج نشان می‌دهد که eRF3a عامل اصلی عمل کننده در ختم ترجمه ی پستانداران است و سطح بیان آن، تشکیل کمپلکس ختم را با تنظیم پایداری پروتئین eRF1 تحت تأثیر قرار می‌دهد (۱۳).

eRF3، اپوپتوز وابسته به پروتئین ASK1 (Apoptosis signal-regulating kinase 1) را با تسهیل جداسازی مهارکننده ی ۳-۳-۱۴ از پروتئین کیناز ASK1 تحت تأثیر قرار می دهد (۱۴). به علاوه، تحقیقات نشان می‌دهد که یک ایزوفرم از eRF3a/GSPT1 (eRF3a/G1 to S phase transition protein 1) می‌تواند به عنوان یک پروتئین متصل‌شونده به مهارکننده‌های پروتئین‌های اپوپتوزی عمل کند. این فرم که به طور پروتئولیتیک از پروتئین اصلی eRF3 تولید می شود، از انتهای آمینی خود با این پروتئین‌ها بر هم‌کنش می‌کند و منجر به کردن Ubiquitination آن ها، پیشرفت فعال سازی کاسپازها و سرانجام وقوع اپوپتوز می‌گردد (۱۵).

دمین انتهای آمینی eRF3 واجد یک گسترش

پلی گلیسین است که توسط یک قطعه ی تکراری $(GGC)_n$ در اگزون شماره‌ی ۱ ژن کدکننده‌ی این فاکتور کد می شود. پنج آلل از ژن eRF3a/GSPT1 شناسایی شده است که برای ۷، ۹، ۱۰، ۱۱ و ۱۲ گلیسین کد می کنند (۱۶). مطالعاتی که به تازگی به بررسی ارتباط فاکتورهای آزاد کننده با فرآیند تومورزایی پرداخته‌اند، نشان می دهند که سطوح eRF3a mRNAی در تومورهای معده، پستان و کولورکتال افزایش می یابند. همچنین این مطالعات حاکی از ارتباط مستقیم بین وجود آلل GGC-۱۲ این ژن و احتمال ابتلا به سرطان‌های فوق است (۱۹-۱۷).

در مطالعه‌ی حاضر، پلی‌مورفیسم ژن eRF3a/GSPT1 در جمعیت ۵۰۰ نفره از زنان ساکن شهر اصفهان و ارتباط این پلی‌مورفیسم با سرطان پستان، برای اولین بار در ایران، بررسی شد.

روش‌ها

طی این مطالعه‌ی مورد- شاهدی نمونه‌های خون محیطی از ۲۵۰ زن مبتلا به سرطان پستان و ۲۵۰ زن سالم جمع‌آوری گردید. بیماران در محدوده‌ی سنی ۷۹-۲۴ سال و مراجعین بیمارستان سیدالشهدای (ع) شهر اصفهان بودند. نمونه های شاهد نیز به طور تصادفی از بین زنانی انتخاب شدند که جهت انجام بررسی های معمول به بیمارستان مراجعه کرده بودند؛ این افراد هیچ سابقه‌ی فامیلی از نظر وجود سرطان پستان در خانواده نداشتند و از نظر سن نیز در محدوده‌ی سنی افراد بیمار بودند. از کلیه‌ی شرکت‌کنندگان در مطالعه برای گرفتن نمونه‌ها رضایت کتبی گرفته شد.

DNA با استفاده از روش رسوب‌دهی نمکی (Salting out) استخراج شد. قطعه‌ی تکراری $(GGC)_n$ واقع در اگزون ۱ ژن eRF3a توسط پرایمرهای مورد استفاده در مطالعات گذشته (۱۷)، شامل پرایمر پیشرو 5'-CAT TTC TCG CTC TCT GTC CAC-3' و پرایمر پیرو 5'-CTG GTC CCA GCA GTC AGG-3' تکثیر گردید. واکنش زنجیره‌ای پلی‌مراز (PCR یا Polymerase chain reaction) در حجم نهایی ۲۵ میکرولیتر حاوی ۲۵۰-۱۰۰ نانوگرم DNA ژنومی، ۲۰۰ میکرومولار dNTP mix، ۰/۸ میکرومولار از هر یک از پرایمرهای پیشرو و پیرو، ۲ میلی‌مولار $MgCl_2$، ۲/۵ میکرولیتر DMSO ۱۰ درصد، ۵ میکرولیتر بتاین ۵ مولار، ۲/۵ میکرولیتر بافر PCR۱۰X و دو واحد آنزیم Smar Taq™ DNA Polymeras در دستگاه Mastercycler شرکت Eppendorf انجام شد.

پس از واسرشت شدن اولیه‌ی DNA در دمای ۹۴ درجه‌ی سانتی گراد به مدت ۵ دقیقه، ۳۳ سیکل PCR شامل یک دقیقه در دمای ۹۴ درجه‌ی سانتی گراد برای واسرشت شدن رشته ها، یک دقیقه در دمای ۵۸ درجه‌ی سانتی گراد جهت اتصال پرایمرها و یک دقیقه نیز در دمای ۷۲ درجه‌ی سانتی گراد برای گسترش پرایمرها انجام شد. به علاوه، یک سیکل نهایی نیز به مدت ۱۰ دقیقه در دمای ۷۲ درجه‌ی سانتی گراد جهت تکثیر توالی‌های ناقص در نظر گرفته شد.

محصولات PCR پس از بهینه‌سازی شرایط دمایی و همچنین غلظت $MgCl_2$، توسط ژل آگارز ۱ درصد تأیید شد. جهت بررسی پلی‌مورفیسم ژن eRF3a از الکتروفورز ژل پلی‌اکریل‌آمید (PAGE یا Polyacrylamide gel electrophoresis) ۱۰ درصد معمولی (Non-denaturing PAGE) استفاده شد. ژل با روش رنگ آمیزی نیترات نقره

رنگ‌آمیزی شد و پس از ظهور باندهای DNA، نتایج توسط اسکنر ثبت گردید.

پس از بررسی حدود ۱۰۰ نمونه از محصولات PCR بر روی ژل پلی‌اکریل‌آمید، فراوان‌ترین آلل هموزیگوت (M۹) به همراه نمونه‌های شماره‌ی ۱۵ و ۱۷ جهت تعیین توالی انتخاب شدند تا در مرحله ی بعد به عنوان مارکر اختصاصی، برای تعیین تعداد تکرارهای GGC در سایر نمونه‌ها مورد استفاده قرار گیرند.

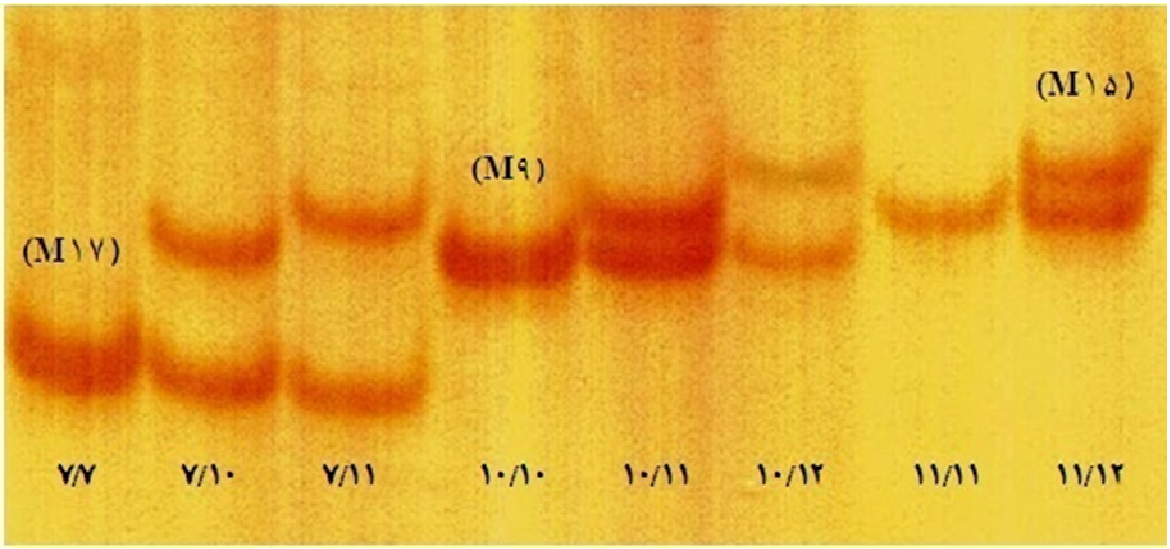
پس از خالص‌سازی DNA نمونه‌های کاندید توالی یابی از ژل آگارز توسط کیت استخراج DNA شرکت فرمنتاز، این نمونه ها جهت تعیین توالی به شرکت سیناژن تهران فرستاده شدند.

بعد از تعیین طول تکرار آلل‌های مربوط به تمامی افراد بیمار و شاهد و محاسبه ی فراوانی آللی ژن eRF3a، داده‌ها آماده‌ی بررسی‌های آماری گردید. نرم‌افزار SISA جهت انجام آنالیزهای آماری مورد استفاده قرار گرفت و در نهایت ارتباط بین ژنوتیپ و عوامل مرتبط با بروز سرطان به کمک آزمون‌های χ^2، ضریب همبستگی Pearson و Logistic regression تعیین شد.

یافته‌ها

پس از تهیه ی مارکرهای مخصوص آللی با استفاده از تعیین توالی محصول PCR نمونه های ۹، ۱۵ و ۱۷، از این مارکرها برای تعیین دقیق تعداد تکرارهای سایر نمونه ها در بیماران و افراد شاهد استفاده شد. به این ترتیب با بررسی تمامی ۲۵۰ نمونه‌ی بیمار و ۲۵۰ نمونه ی شاهد، چهار نوع آلل شامل ۷، ۱۰، ۱۱ و ۱۲ تکرار شد و هشت نوع ترکیب آللی مختلف برای ژن مزبور مشاهده گردید.

چنانچه در شکل ۱ مشخص است، این ۸ نوع ترکیب آللی به ترتیب از چپ به راست عبارت از ۷/۷ (M۱۷)، ۷/۱۰، ۷/۱۱، ۱۰/۱۰ (M۹)، ۱۰/۱۱، ۱۰/۱۲، ۱۱/۱۱ و ۱۱/۱۲ (M۱۵) بود.



شکل ۱. تعیین ژنوتیپ (تعداد تکرارهای GGC) افراد مورد آزمایش برای ژن eRF3/GSPT1، به کمک مارکرهای اختصاصی شماره‌ی ۹ (M۹)، شماره‌ی ۱۵ (M۱۵) و شماره‌ی ۱۷ (M۱۷) بر روی ژل پلی‌آکریل‌آمید ۱۰ درصد و مشاهده‌ی ۸ نوع ترکیب آللی مختلف

جدول ۱. فراوانی و درصد آلل‌های مختلف ژن **eRF3/GSPT1** در بین بیماران و افراد شاهد

آلل	افراد بیمار (درصد) تعداد	افراد سالم (درصد) تعداد	OR (CI 95%)
۷	۲۹ (۵/۸)	۲۷ (۵/۴)	۱/۰۷ (۰/۶۲–۱/۸۵)
۱۰	۳۲۱ (۶۴/۲)	۳۴۴ (۶۸/۸)	۰/۸۱ (۰/۶۲–۱/۰۵)
۱۱	۱۳۶ (۲۷/۲)	۱۲۴ (۲۴/۸)	۱/۱۳ (۰/۸۵–۱/۵۰)
۱۲	۱۴ (۲/۸)	۵ (۱)	۲/۹۰ (۱/۰۳–۸/۰۱)
تعداد کل آلل‌ها	۵۰۰ (۱۰۰)	۵۰۰ (۱۰۰)	

جدول ۲. فراوانی و درصد انواع ترکیبات آللی ژن **eRF3/GSPT1** مشاهده شده در جمعیت بیماران و افراد سالم

ژنوتیپ	افراد بیمار (درصد) تعداد	افراد سالم (درصد) تعداد	OR (CI 95%)
۷/۷	۵ (۲)	۱ (۰/۴)	۵/۰۸ (۰/۵۸–۴۳/۸۱)
۷/۱۰	۱۳ (۵/۲)	۱۷ (۶/۸)	۰/۷۵ (۰/۳۵–۱/۵۸)
۷/۱۱	۶ (۲/۴)	۸ (۳/۲)	۰/۷۴ (۰/۲۵–۲/۱۷)
۱۰/۱۰	۱۱۰ (۴۴)	۱۲۰ (۴۸)	۰/۸۵ (۰/۵۹–۱/۲۱)
۱۰/۱۱	۷۷ (۳۰/۸)	۸۳ (۳۳/۲)	۰/۸۹ (۰/۶۱–۱/۳۰)
۱۰/۱۲	۱۱ (۴/۴)	۴ (۱/۶)	۲/۸۳ (۰/۸۸–۹/۰۱)
۱۱/۱۱	۲۵ (۱۰)	۱۶ (۶/۴)	۱/۶۲(۰/۸۴–۳/۱۲)
۱۱/۱۲	۳ (۱/۲)	۱ (۰/۴)	۳/۰۲ (۰/۳۱–۲۹/۲۷)
تعداد کل ژنوتیپ‌ها	۲۵۰ (۱۰۰)	۲۵۰ (۱۰۰)	

بررسی فراوانی آللی ژن eRF3a نشان داد که از بین آلل های یافت شده در جمعیت مورد بررسی، آلل ۱۰ تکرار بیشترین فراوانی را در بین بیماران (۶۴/۲ درصد) و افراد شاهد (۶۸/۸ درصد) به خود اختصاص داده است. به این ترتیب در میان کل افراد مورد بررسی، شایع ترین آلل $(GGC)_{10}$ با فراوانی ۶۶/۵ درصد و دومین آلل رایج، $(GGC)_{11}$ با فراوانی ۲۶ درصد بود. همچنین کمترین فراوانی آللی در هر دو گروه بیمار و شاهد متعلق به $(GGC)_{12}$، به ترتیب با فراوانی ۲/۸ و ۱ درصد بود (جدول ۱).

همان گونه که در جدول ۱ مشخص است، در مقایسه با افراد شاهد، فرکانس آللی Gly–۱۲ در افراد بیمار بیشتر بود (OR: ۲/۹۰ با ۱/۰۳–۸/۰۱ :CI ٪۹۵).

فرکانس ژنوتیپی تکرار GGC در بیماران و افراد شاهد در جدول ۲ مشخص شده است.

ژنوتیپ هموزیگوت ۱۰ با فرکانس ۴۴ و ۴۸ درصد، به ترتیب در بیماران و افراد شاهد معمول ترین ژنوتیپ و پس از آن، ژنوتیپ هتروزیگوت ۱۰/۱۱، فراوان ترین نوع ترکیب آللی بود. ژنوتیپ هموزیگوت ۷ نیز در بیماران بیشتر از افراد شاهد به چشم خورد (OR: ۵/۰۸ با ۰/۵۸۹۴–۴۳/۸۱۳۳ :CI ٪۹۵)

به این ترتیب نتایج بررسی‌های آماری نشان داد که آلل ۱۲ تکرار از ژن eRF3a که در بین بیماران بیشتر بود، می‌تواند یک عامل افزایش خطر به مقدار سه برابر، برای ابتلا به سرطان پستان به شمار رود.

از طرفی در تجزیه و تحلیل نتایج مربوط به

فراوانی ترکیبات آللی در بین دو گروه بیمار و شاهد نیز هموزیگوت های ۷/۷ در بین بیماران بیشتر از افراد شاهد دیده شد.

در مرحله ی بعد، ارتباط بین طول تکرار GGC در ژن eRF3a با دو عامل سابقه‌ی فامیلی بیماری و سن شروع آن مورد بررسی قرار گرفت. بررسی اطلاعات توسط آزمون Logistic regression نشان داد که وجود یا عدم وجود سابقه ی ابتلا به سرطان پستان در خویشاوندان درجه ی یک و دو، با تکرارهای GGC در ژن مورد نظر ارتباط معنی داری نداشت. اما نتایج تحلیل های آماری نشان داد که نسبت فزاینده‌ی بیشتر از ۱ (OR: ۳/۶۵۶۲ با ۳۳/۱۸-۰/۴۰ :٪۹۵ CI) می تواند دلیلی بر وجود ارتباط بین ژنوتیپ ۷/۷ تکرار GGC با سن شروع بیماری باشد. در این مورد اگر چه سطح معنی‌داری بیشتر از سطح خطا بود (P = ۰/۲۱)، اما با توجه به فاصله‌ی اطمینان به دست‌آمده نتایج حاکی از تأیید وجود این ارتباط بود.

به این ترتیب، می توان نتیجه گرفت که افراد واجد ژنوتیپ ۷/۷ تکرار GGC از ژن eRF3a/GSPT1 نسبت به سایر افراد استعداد بیشتری در ابتلا به سرطان پستان در سنین قبل از ۵۰ سالگی دارند.

بحث

در این مطالعه برای اولین بار در ایران، ارتباط بین تکرار سه نوکلئوتیدی پلی مورف در یک فاکتور ترجمه ای و خطر ابتلا به سرطان پستان مورد بررسی قرار گرفت. eRF3a/GSPT1 یک پروتئین چند عملکردی در سلول های یوکاریوتی است که دمین انتهای آمینی آن واجد یک قطعه‌ی پلی‌گلیسین می باشد و توسط یک گسترش $(GGC)_n$ در اگزون شماره‌ی ۱ ژن GSPT1 کد می‌شود. در این پروژه، ۴ آلل مختلف برای تکرار GGC در ناحیه ی مورد نظر، در محدوده‌ی ۱۲-۷ تکرار تعیین شد.

مطالعات قبلی مربوط به پلی مورفیسم ناحیه‌ی ژنی مذکور و خطر ابتلا به سرطان، تا کنون تنها بر روی جمعیت هایی از کشور پرتغال انجام شده است. نتایج این مطالعات نشان داد که حضور آلل $(GGC)_{۱۲}$ می تواند تا ۱۲ برابر خطر ابتلا به سرطان‌های معده، پستان و کولورکتال را افزایش دهد (۱۸).

در پژوهش حاضر، پلی مورفیسم $(GGC)_n$ در ۵۰۰ نمونه ی خونی موبوط به جمعیتی از زنان ساکن شهر اصفهان مورد بررسی قرار گرفت. یافته ها نشان داد که افراد حامل آلل $(GGC)_{۱۲}$ و کسانی که برای آلل $(GGC)_۷$ از ژن مورد نظر هموزیگوت بودند، به طور قابل ملاحظه‌ای در معرض خطر بیشتری برای ابتلا به سرطات پستان قرار داشتند.

همچنین نتایج حاکی از آن بود که فرکانس آلل‌های ۷، ۱۰، ۱۱ و ۱۲ تکرار در جمعیت ساکن اصفهان کمابیش مشابه با جمعیت همسان پرتغالی بود. اما آلل $(GGC)_۹$ در بین گروه ۵۰۰ نفری مورد مطالعه یافت نشد. به علاوه فرکانس آلل $(GGC)_{۱۲}$ در جمعیت شاهد ساکن اصفهان ۱ درصد بود، در حالی که این آلل در هیچ یک از گروه های شاهد پرتغالی گزارش نشده بود (۱۸).

تحقیقات نشان می دهد که سطوح mRNA مربوط به GSPT1 در تومورهای معده، پستان و کولورکتال در مقایسه با بافت‌های سالم افزایش بیان نشان می‌دهد. به علاوه، بیماران واجد آلل ۱۲ تکرار در مقایسه با حاملین آلل‌های کوتاه‌تر، دارای سطوح افزایش‌یافته‌ای از mRNAی این ژن هستند (۱۹-۱۷). این سطوح

افزایش‌یافته‌ی mRNA، نمی‌تواند نتیجه‌ی افزایش عملکرد ماشین ختم ترجمه باشد؛ چرا که مقادیر mRNAی سایر عوامل ختم ترجمه تغییر نمی‌کند.

مطالعات نشان می‌دهد که در پلی‌مورفیسم $(GGC)_n$ ژن eRF3a، تعداد سایت های CpG به طور مستقیم با تعداد تکرارهای GGC متناسب است؛ اما ارتباطی بین طول آلل‌ها و سطوح متیلاسیون سایت های CpG درون گسترش GGC گزارش نشده است (۱۸). بنابراین می توان گفت که مکانیسم های دیگری باید مسؤول سطوح افزایش‌یافته‌ی mRNA مربوط به GSPT1 باشند.

اختلالات عملکردی eRF3a در نواقص تجمع سیتواسکلتون و در نتیجه، در جداسازی کروموزومی، در موجودات مختلفی همچون مخمر و مگس سرکه نشان داده شده است (۱۳-۱۱). تشکیل ریزهسته ها در سلول‌های تقسیم‌شونده در نتیجه‌ی اختلال جداسازی کروموزومی به واسطه‌ی اختلال میتوزی ایجاد می‌شود؛ بنابراین فراوانی ریزهسته‌ها را می‌توان به عنوان یک مارکر زیستی برای بررسی احتمال ابتلا به سرطان در نظر گرفت (۲۰). در همه‌ی رده‌های سلولی واجد آلل های طویل eRF3a، فرکانس بالاتری از ریزهسته‌ها دیده می‌شود که ممکن است نتیجه‌ی اختلال در تشکیل دوک میتوزی باشد (۱۸).

نتیجه‌گیری

به طور خلاصه، نتایج حاصل از پژوهش حاضر بیانگر این بود که وجود آلل Gly-۱۲ از ژن GSPT1، ممکن است خطر ابتلا به سرطان پستان را در زنان ساکن اصفهان افزایش دهد؛ اما نکته‌ی قابل توجه این است که زنان هموزیگوت برای کوتاه‌ترین آلل نیز به میزان زیادی در معرض ابتلا به این نوع سرطان هستند. بنابراین، اگر چه مطالعات اخیر نشان داده‌اند که افزایش بیان مربوط به آلل $(GGC)_{۱۲}$ ممکن است یک پروتوانکوژن بالقوه محسوب شود، اما یافته های این تحقیق در مورد کوتاه ترین آلل و ارتباط آن با سرطان پستان نیز باید مورد توجه قرار گیرد.

تشکر و قدردانی

از حمایت مالی معاونت تحقیقات و فناوری دانشگاه اصفهان جهت انجام این پژوهش و از خانم الهه جان‌نثاری به خاطر زحماتشان در تهیه‌ی نمونه‌ها تشکر و قدردانی می‌شود.

References

1. Williams N. Breast cancer research and the European Union Clinical Trials Directive. Breast Cancer Res 2004; 6(4): 145-7.
2. Center for Disease Control and Prevention, Health Deputy, Ministry of Health and Medical Education. Iranian annual cancer registration report 2003. Tehran, Iran: Kelk-e-Dirin Publications; 2005. [In Persian].
3. Mousavi SM, Montazeri A, Mohagheghi MA, Jarrahi AM, Harirchi I, Najafi M, et al. Breast cancer in Iran: an epidemiological review. Breast J 2007; 13(4): 383-91.
4. Nupponen NN, Porkka K, Kakkola L, Tanner M, Persson K, Borg A, et al. Amplification and overexpression of p40 subunit of eukaryotic translation initiation factor 3 in breast and prostate cancer. Am J Pathol 1999; 154(6): 1777-83.
5. Rothe M, Ko Y, Albers P, Wernert N. Eukaryotic initiation factor 3 p110 mRNA is overexpressed in testicular seminomas. Am J Pathol 2000; 157(5): 1597-604.
6. Anand N, Murthy S, Amann G, Wernick M, Porter LA, Cukier IH, et al. Protein elongation factor EEF1A2 is a putative oncogene in ovarian cancer. Nat Genet 2002; 31(3): 301-5.
7. Zhouravleva G, Frolova L, Le G, X, Le GR, Inge-Vechtomov S, Kisselev L, et al.

Termination of translation in eukaryotes is governed by two interacting polypeptide chain release factors, eRF1 and eRF3. EMBO J 1995; 14(16): 4065-72.

8. Hoshino S, Hosoda N, Araki Y, Kobayashi T, Uchida N, Funakoshi Y, et al. Novel function of the eukaryotic polypeptide-chain releasing factor 3 (eRF3/GSPT) in the mRNA degradation pathway. Biochemistry (Mosc) 1999; 64(12): 1367-72.
9. 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.
10. 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.
11. Valouev IA, Kushnirov VV, Ter-Avanesyan MD. Yeast polypeptide chain release factors eRF1 and eRF3 are involved in cytoskeleton organization and cell cycle regulation. Cell Motil Cytoskeleton 2002; 52(3): 161-73.
12. Serio TR, Lindquist SL. [PSI+]: an epigenetic modulator of translation termination efficiency. Annu Rev Cell Dev Biol 1999; 15: 661-703.
13. Basu J, Williams BC, Li Z, Williams EV, Goldberg ML. Depletion of a Drosophila homolog of yeast Sup35p disrupts spindle assembly, chromosome segregation, and cytokinesis during male meiosis. Cell Motil Cytoskeleton 1998; 39(4): 286-302.
14. 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.
15. 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.
16. Merkulova TI, Frolova LY, Lazar M, Camonis J, Kisselev LL. C-terminal domains of human translation termination factors eRF1 and eRF3 mediate their in vivo interaction. FEBS Lett 1999; 443(1): 41-7.
17. 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.
18. Malta-Vacas J, Aires C, Costa P, Conde AR, Ramos S, Martins AP, et al. Differential expression of the eukaryotic release factor 3 (eRF3/GSPT1) according to gastric cancer histological types. J Clin Pathol 2005; 58(6): 621-5.
19. Malta-Vacas J, Chauvin C, Goncalves L, Nazare A, Carvalho C, Monteiro C, et al. eRF3a/GSPT1 12-GGC allele increases the susceptibility for breast cancer development. Oncol Rep 2009; 21(6): 1551-8.
20. Eastmond DA, Tucker JD. Identification of aneuploidy-inducing agents using cytokinesis-blocked human lymphocytes and an antikinetochore antibody. Environ Mol Mutagen 1989; 13(1): 34-43.

Journal of Isfahan Medical School
Received: 19.11.2012
Vol. 30, No. 221, 3rd Week, March 2013
Accepted: 24.01.2013

Eukaryotic Release Factor 3 and Risk of Breast Cancer

Mahboobeh Miri[1], Manoochehr Tavassoli PhD[2], Simin Hemmati MD[3]

Original Article

Abstract

Background: Eukaryotic release factor 3 (eRF3) is known as a polypeptide chain releasing factor in the translation process. It is necessary for G_1 to S phase transition (GSPT1). Recent studies have demonstrated that this protein may have a potential role in development of cancer. The purpose of this study was to investigate the tri-nucleotide polymorphism (GGC) in *eRF3a/GSPT1* exon 1 gene and to identify its association with risk of breast cancer in Isfahan, Iran.

Methods: This study was conducted on 250 women with breast cancer and 250 healthy women. DNA was extracted from peripheral blood and amplified by polymerase chain reaction (PCR). Finally, polyacrylamide gel electrophoresis was used to detect GGC polymorphism.

Findings: Four alleles including 7, 10, 11 and 12 repetitions of GGC were found. GGC_{10} was the most common allele between patients and controls. Women who carried GGC_{12} allele (odds ratio = 2.9068, confidence interval = 1.0308-8.0196) and those who are homozygous for GGC_7 (odds ratio = 5.0816, confidence interval = 0.5894-43.8133) of eRF3a/GSPT1 gene were at significantly higher risk for developing breast cancer.

Conclusion: This was the first Iranian study to identify the distribution, allelic frequency, and various genotypes of eRF3a/GSPT1 gene. We found the homozygous occurrence of the longest and the shortest allele of this gene to increase the risk for breast cancer among women in Isfahan.

Keywords: Breast cancer, Eukaryotic release factor 3, Repeated sequences of GGC, Polymorphism

Citation: Miri M, Tavassoli M, Hemmati S. **Eukaryotic Release Factor 3 and Risk of Breast Cancer.** J Isfahan Med Sch 2013; 30(221): 2467-75

* This paper is derived from MSc thesis in University of Isfahan.

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
Corresponding Author: Manoochehr Tavassoli PhD, Email: manoochehrt@yahoo.com