Journal of Shahid Sadoughi University of Medical Sciences
Vol. 25, No.6, Sep 2017
Pages: 476-484

مجله علمی پژوهشی دانشگاه علوم پزشکی شهید صدوقی یزد
دوره ۲۵، شماره ۶، شهریور ۱۳۹۶
صفحه:۴۸۴-۴۷۶

بررسی بیان ژن مهارکننده توموری TUSC1 (Tumor suppressor candidate gene 1) در نمونه‌های بافتی سرطان پستان و همراهی آن با میزان تومورزایی

هادی عبدالرضائی[۱]، سمیه رئیسی*[۲]، لیلا روحی[۳]

چکیده

مقدمه: سرطان پستان به عنوان دلیل اصلی مرگ در زنان است. چندین بیومارکر برای ارزیابی پاسخ به درمان و هدف‌گیری درمانی استفاده می‌شوند. ژن مهارکننده توموری کاندید ۱ (TUSC1) به تازگی به عنوان یک مهارکننده تومور در سرطان‌های انسانی شناسایی شده است. با این وجود بیان و عملکرد بالقوه TUSC1 در سرطان پستان هنوز مشخص نشده است؛ بنابراین، هدف این مطالعه بررسی بیان ژنی TUSC1 در نمونه‌های توموری پستان بوده است.

روش بررسی: در این مطالعه مورد-شاهدی، ۴۰ بافت پارافینه سرطان پستان و ۴۰ بافت سالم مجاور آن وارد شدند. بعد از تکمیل رضایت‌نامه، اطلاعات بالینی مربوط به تمام نمونه‌ها گرفته شد. RNA تام و DNA مکمل (cDNA) سنتز شد. بیان نسبی ژن با استفاده از روش کمی real-time RT PCR (qRT-PCR) به دست آمد و به وسیله روش $\mathbf{2}^{-\Delta\Delta ct}$ ارزیابی شد.

نتایج: بیان ژن TUSC1 در بافت توموری در مقایسه با بافت سالم مجاور آن کمتر بود و این کاهش بیان از نظر آماری معنی‌دار بود (P= ۰/۰۰۰۳). همچنین بیان این ژن در حالت متاستاز کاهش قابل ملاحظه‌ای نشان داد (P=۰/۰۲۷).

نتیجه‌گیری: مطالعه ما آشکار کرد که بیان TUSC1 در سرطان پستان پایین‌تر است. پس از آن، با توجه به اطلاعات در مورد بیان ژن TUSC1 از بعضی سرطان‌ها (ریه، هپاتوسلولار و معده) حدس زده می‌شود که ژن TUSC1 احتمالاً به عنوان یک مهارکننده توموری در سرطان پستان عمل می‌کند و بر روی متاستاز اثر می‌گذارد؛ بنابراین مطالعات تکمیلی برای مشخص شدن مکانیسم دقیق عملکرد ژن در تومورزایی باید انجام شود.

واژه‌های کلیدی: TUSC1، سرطان پستان، تومورزایی، Real-time PCR

۱- دانشجوی کارشناسی ارشد، گروه ژنتیک، دانشگاه آزاد اسلامی واحد شهرکرد، شهرکرد
۲- استادیار، گروه ژنتیک، دانشکده علوم، دانشگاه شهرکرد، شهرکرد
۳-استادیار، گروه زیست شناسی-دانشگاه آزاد اسلامی واحد شهرکرد، شهرکرد
***(نویسنده مسئول)؛ تلفن: ۰۳۸۳۲۳۲۴۴۰ -۰۳۵، پست الکترونیکی:** s.reiisi@yahoo.com
تاریخ دریافت: ۱۳۹۶/۱/۳۱ تاریخ پذیرش: ۱۳۹۶/۶/۲۵

مقدمه

سرطان پستان، یک بیماری پیچیده است که به علت مجموعه‌ای از عوامل محیطی و ژنتیکی ایجاد می‌شود. این سرطان از شایع‌ترین بدخیمی‌ها و دومین علت مرگ در بین زنان در کشورهای پیشرفته است. این سرطان در حدود ۲۳ درصد کل بدخیمی‌ها و ۱۴ درصد علت‌های مرگ‌ومیر ناشی از سرطان را شامل می‌شود (۱). مطابق با گزارش‌های سازمان بهداشت جهانی فراوانی این سرطان به میزان ۲ درصد در هر سال افزایش می‌یابد (۲). در ایران نیز این سرطان عامل حدوداً ۲۱ درصد کل بدخیمی‌ها در زنان می‌باشد و نکته قابل‌توجه این است که زنان ایرانی حدوداً یک دهه زودتر دچار این بیماری می‌شوند و مطابق با بررسی‌های انجام شده در میان زنان ایرانی، نشان داده شده است که نوع سرطان در آن‌ها به صورت خانوادگی و ژنتیکی بوده و این ریسک فاکتور در آن‌ها بیشتر است (۳). با وجود شیوع بالا، اگر بیماری در مراحل اولیه تشخیص داده شود، درمان‌پذیر است. هدف از غربالگری، تشخیص بیماری در زمانی است که هنوز به مرحله متاستاتیک نرسیده است. غربالگری به کمک ماموگرافی، سونوگرافی یا MRI میسر می‌شود (۴). بعد از آن، مشخص شدن اساس مولکولی فرآیندهای درگیر در شروع و پیشرفت تومورهای پستان برای درمان مؤثر آن ضروری است (۵). فراوان‌ترین ژن‌هایی که برای سرطان پستان پیشنهاد شده‌اند و استعداد ابتلا به بیماری را افزایش می‌دهند شامل BRCA1 and BRCA2, p53, PTEN, STK11/LKB1,and CDH1 می‌باشند (۶). از طرف دیگر علاوه بر شناسایی مکانیسم بیماری، شناسایی مارکرهایی که بتواند در تشخیص زودتر بیماری کمک کند، بسیار مفید خواهد بود. تومورمارکرها توسط سلول‌های سرطانی و یا در اثر پاسخ بدن به سرطان تولید می‌شوند. افزایش یا کاهش و یا تغییر در این تومورمارکرها می‌تواند در انواع خاص سرطان متفاوت باشد و می‌توانند در شناسایی، تشخیص زودرس و اتخاذ روش درمانی مناسب کارآمد باشند (۷). در سرطان پستان به دلیل هتروژن بودن بیماری و داشتن انواع مختلفی از تومورها شناسایی یک تومورمارکر که بتواند انواع مختلف سرطان را پوشش دهد بسیار مفید است. برای بررسی در این زمینه در مطالعه حاضر، ژن TUSC1 (Tumor suppressor candidate gene 1) با این هدف انتخاب و بررسی شد. این ژن به تازگی شناسایی شده است و به عنوان یک ژن مهارکننده تومور در سرطان ریه معرفی شده است.

ژن TUSC1 که بر روی ناحیه کروموزومی ۹P۲۱.۲ قرار دارد، یک ژن کاندید مهارکننده تومور است. این ژن اولین بار به عنوان یک مارکر تشخیصی در سرطان ریه شناسایی شد (۸). مطالعات اخیر نشان داده‌اند که کاهش بیان در ژن TUSC1 همراه با پیش‌آگهی پایین در انواعی از سرطان‌های انسانی شامل سرطان ریه، سرطان معده و کارسینومای هپاتوسلولار است (۹،۱۰). به‌علاوه افزایش بیان ژن TUSC1 تکثیر سلولی و تومورزایی را در سرطان ریه مهار می‌کند؛ اما مکانیسم مولکولی و عملکردی آن در سرطان مشخص نشده است (۱۱). در مورد سرطان پستان، نیز در ارتباط با میزان بیان این ژن هنوز مطالعه‌ای صورت نگرفته است؛ بنابراین در این مطالعه، ما سطح بیان TUSC1 را در نمونه‌های پارافینه سرطان سینه و بافت غیرسرطانی مجاور آن مورد بررسی قرار دادیم. همچنین ارتباط بیان این ژن را با میزان متاستاز، درجه توموری و مرحله پیشرفت تومور مورد بررسی قرار دادیم.

روش بررسی

در مطالعه حاضر برای بررسی بیان ژنی از بافت‌های پارافینه سرطان پستان استفاده شد. مطالعه به صورت مورد- شاهدی انجام شد و ۴۰ بافت توموری سرطان پستان و ۴۰ بافت غیرتوموری مجاور آن انتخاب شدند. نمونه‌ها از بلوک‌های پارافینه به دست آمدند که برش‌های ۱۰ میکرومتری از آن‌ها تهیه و در میکروتیوپ‌های ۲ سی‌سی استریل قرار داده شد. نمونه‌ها تا زمان انجام آزمایش‌های مولکولی در دمای ۲۰- درجه سانتی‌گراد نگهداری شدند. از تمام بیماران در دسترس فرم رضایت‌نامه دریافت گردید و علاوه بر سن، اطلاعات پاتولوژی و بالینی بیماران مانند اندازه تومور، متاستاز و درجه توموری نیز برای هر نمونه مشخص شد. مطالعه انجام شده ابتدا

در کمیته پژوهشی و اخلاق دانشگاه به شماره ۱۳۳۳۰۵۰۳۹۵۱۰۱۲ مورد تایید قرار گرفت.

استخراج RNA و سنتز cDNA

RNA کل سلولی با استفاده از کیت استخراج MN آلمان (NucleoSpin totalRNA FFPE-Germany) و بر اساس دستورالعمل کیت انجام شد. مطابق با روش کیت ابتدا پارافین‌زدایی انجام شده و سپس سایر مراحل استخراج بر روی بافت بدون پارافین انجام شد. برای بررسی کیفیت و کمیت RNAهای استخراج شده از دستگاه نانودراپ استفاده شد (Nanodrop 2000, Thermo Fisher Scientific, Wilmington, DE, USA). RNA های به دست آمده تا انجام مراحل بعدی در دمای ۷۰- درجه سانتی‌گراد قرار گرفتند. در مرحله بعد DNA مکمل (cDNA) با استفاده از کیت سنتز تاکارا ژاپن (Takara, Clontech-Japan) تکثیر شد. دستورالعمل کیت شامل دو مرحله بود که مرحله اول اضافه کردن پرایمرهای شش تایی تصادفی (Random Hexamer)، اولیگو dt (oligo-dt) و آنزیم ریورس ترانسکریپتاز (Prime Script RT) و مرحله دوم انکوباسیون در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد به مدت ۱۵ دقیقه که به مدت ۵ ثانیه در دمای ۸۵ درجه سانتی‌گراد ادامه پیدا می‌کرد.

طراحی پرایمرها و بررسی بیان ژن با qReal time PCR

طراحی پرایمر برای ژن‌های بتا اکتین و TUSC1 طبق توالی به دست آمده از پایگاه Ensemble توسط نرم‌افزار Oligo V.7.0 انجام شد (جدول ۱). بررسی بیان ژن با روش qRT-PCR به وسیله دستگاه Rotor-gene 6000 (Qiagen, Hildn, Germany) انجام شد. واکنش برای ژن TUSC1 و ژن کنترل داخلی بتا اکتین در حجم ۲۰ میکرولیتر به مقدارهای: SYBR premix Ex taqII (Takara-Japan) به مقدار ۱۰ میکرولیتر، پرایمرهای پیشرو و معکوس (۱۰ پیکومول) هر کدام به مقدار ۰/۲ میکرولیتر، cDNA ۲ میکرولیتر که با آب فاقد نوکلئاز به حجم مورد نظر رسید. دمای انجام واکنش در دستگاه به صورت زیر است:

دناتوراسیون اولیه ۹۵ درجه سانتی‌گراد به مدت ۱۰ دقیقه، ۴۰ سیکل واکنش تکثیر شامل ۱۵ ثانیه دناتوراسیون در دمای ۹۵ درجه سانتی‌گراد، ۲۰ ثانیه دمای اتصال پرایمرها در ۶۱ درجه سانتی‌گراد و دمای طویل سازی قطعات ۲۰ ثانیه در ۷۲ درجه سانتی‌گراد بوده است. مرحله ذوب (Melting) برای محصولات در دمای ۷۲-۹۵ درجه سانتی‌گراد انجام شد. برای تجزیه تحلیل داده‌های حاصل از واکنش، از روش $\mathbf{2}^{-\Delta\Delta ct}$ استفاده شد و سپس الگوی بیانی توسط آنالیزهای آماری بررسی شد.

آنالیز آماری

جهت بررسی آماری داده‌ها، از نرم‌افزار SPSS نسخه ۲۲ (SPSS v.22 Inc. Chicago,IL) استفاده شد. برای تعیین معنی‌دار بودن میزان بیان ژن‌ها در نمونه‌های توموری و غیرتوموری و بررسی گروه‌های سنی، اندازه تومور و متاستاز از آزمون آماری t-test استفاده شد. درجه توموری و ارتباط با میزان بیان ژن با روش ANOVA سنجیده شد. سطح معنی‌داری برای محاسبات آماری کمتر از ۰/۰۵ در نظر گرفته شد. برای رسم نمودارها از نرم‌افزار GraphPad Prism V.7 استفاده شد.

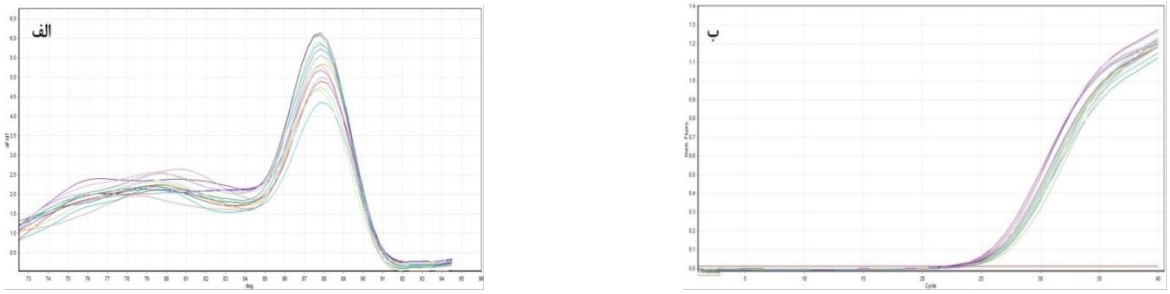
جدول ۱: توالی‌های پرایمرهای استفاده شده در مطالعه

نام ژن	توالی '۳-'۵	اندازه محصول
بتا اکتین	F: AGAGCTACGAGCTGCCTGAC R: AGCACTGTGTTGGCGTACAG	۱۸۴
TUSC1	F: ACATGTACAGTTCCCCTGCC R: GTGTTTCTTGGCACCCAGTT	۱۱۰

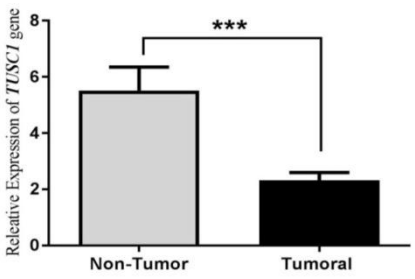
نتایج

در این مطالعه ۴۰ بافت توموری سرطان پستان به همراه ۴۰ بافت سالم مجاور آن با میانگین سنی ۱/۴۲±۴۶/۹۵ وارد شدند. در نمونه‌های مورد بررسی ۱۷ نمونه دارای اندازه تومور ۳ سانتی متر و کوچک‌تر بودند و در تعداد ۲۳ نمونه اندازه تومور بیشتر از ۳ سانتی متر بود. تعداد ۲۵ نمونه دچار متاستاز به گره‌های لنفی شده بودند و اکثر نمونه‌ها در درجه (Grade) ۲ توموری قرار داشتند (۵۲/۵ درصد). برای بررسی بیان ژن از روش qRT-PCR استفاده شد که منحنی ذوب ژن رفرنس (بتا اکتین) و ژن اختصاصی (TUSC1) به صورت تک قله به دست آمد. نمودار ۱ الف، نمودار ذوب مربوط به ژن اختصاصی را نشان می‌دهد. پس از به دست آوردن اطمینان از اختصاصی بودن محصول و بهینه بودن شرایط واکنش، واکنش‌های Real time RT-PCR برای تمامی تمام نمونه‌ها انجام شد. بررسی منحنی تکثیر نشان دهنده تکثیر نمایی قطعه مورد نظر با منحنی ذوب یکسان برای تمام نمونه‌ها بود (نمودار ۱- ب). در مقایسه میان میزان میانگین نسبی ژن TUSC1 در نمونه‌های توموری نسبت به غیرتوموری، آزمون t نشان داد که میانگین بیان نسبی ژن TUSC1 در نمونه‌های توموری نسبت به سالم پایین‌تر است و اختلاف بسیار معنی‌داری بین آن‌ها وجود دارد (p=۰/۰۰۰۳) (شکل ۲).

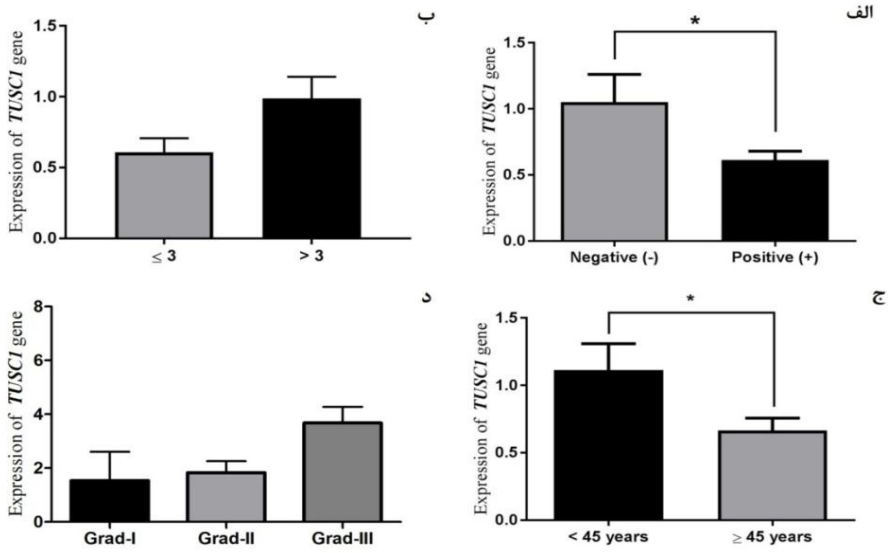
در بررسی ارتباط میان بیان نسبی ژن TUSC1 و میزان متاستاز به گره‌های لنفی مشخص شد که بیان ژن در تومورهای متاستاز دهنده به میزان قابل‌توجهی کاهش یافته بود و از نظر آماری ارتباط معنی‌داری میان بیان ژن و متاستاز توموری دیده شد (p=۰/۰۱۸) (نمودار ۳ الف). برای مشخص کردن ارتباط بیان ژنی با اندازه تومور، نمونه‌ها به دو دسته اندازه تومور ۳ و کوچک‌تر و بزرگ‌تر از ۳ تقسیم شدند. در این بررسی کاهش بیان در اندازه توموری کوچک‌تر از ۳ مشخص شد اما از نظر آماری هیچ ارتباط معنی‌داری بین آن‌ها مشاهده نشد (P=۰/۰۵) (نمودار ۳- ب). در بررسی ارتباط بین سن و میزان بیان ژن TUSC1 در افراد برابر ۴۵ سال و بالاتر کاهش بیان ژن قابل‌مشاهده بود و از نظر آماری اختلاف معنی‌داری میان دو گروه سنی زیر ۴۵ سال و بالای ۴۵ سال مشاهده شد (P=۰/۰۲۷) (نمودار ۳- ج). برای مشخص کردن همراهی بین بیان ژن و درجه توموری از آزمون ANOVA استفاده شد و ارتباط معنی‌داری بین میزان بیان ژن و درجه توموری ۱، ۲ و ۳ مشاهده نشد (P=۰/۱۹) (نمودار ۳- د).



نمودار ۱: الف) نمودار ذوب ژن TUSC1. وجود یک قله در نمودار به معنی اختصاصی بودن پرایمرها است. ب) نمودارهای تکثیر ژن TUSC1



نمودار ۲: نمودار مقایسه میانگین میران بیان ژن TUSC1 در نمونه‌های توموری و غیرتوموری مجاور آن



نمودار ۳- نمودار ستونی مقایسه میزان بیان نسبی ژن TUSC1 در الف) بافت‌های با متاستاز منفی و مثبت. ب) اندازه توموری در تومورهای با اندازه مساوی ۳ و کوچک‌تر و بزرگ‌تر از ۳ ج) گروه‌های سنی زیر ۴۵ و برابر ۴۵ سال و بالای آن. د) درجه توموری

بحث

سرطان پستان شایع‌ترین بدخیمی در زنان است و وراثت و محیط هر دو در آن تأثیرگذار هستند. از این رو شناخت عوامل و مکانیسم‌های درگیر در بیماری می‌تواند در تشخیص، پیش‌آگهی، ملاحظات بالینی و انتخاب روش درمانی مفید باشد (۱۲). از طرف دیگر، سرطان پستان یک بیماری هتروژن بوده و ژن‌های زیادی در آن درگیر می‌باشند. درگیر بودن هر ژن خاص، در بیماری می‌تواند تومورهایی را ایجاد کند که از نظر ویژگی‌های زیست‌شناسی متفاوت باشند و نتایج درمانی و بالینی متفاوتی را طلب کنند (۱۳). به علاوه طبق مطالعات انجام شده این فاکتورها می‌توانند به عنوان هدف‌های درمانی نیز بکار روند (۱۴).

ژن مهارکننده تومور TUSC1 یکی از عواملی است که نقش آن در چندین سرطان به صورت جزئی مشخص‌شده است. این ژن بر روی بازوی کوتاه کروموزوم شماره ۹ قرار دارد. شناسایی مهارکننده‌های توموری کاربردی بر روی بازوی کوتاه کروموزوم ۹، فرصتی را برای گسترش بیومارکرها و استراتژی‌های درمانی جدید ایجاد کرده است. بیومارکرها می‌توانند برای بیماری‌هایی که به صورت فوری نیازمند تشخیص هستند بسیار کمک کننده باشند. ژن TUSC1 به عنوان یکی از این بیومارکرها، برای اولین بار در سرطان ریه، در یک ناحیه با حذف هموزیگوت در مارکر ژنی D9S126 یافت شد و کاهش بیان آن در لاین‌های سلولی سرطان ریه به اثبات رسید (۸). Shan و همکاران نشان دادند که وارد کردن ژن TUSC1 در لاین‌های سلولی سرطان ریه (H290 و NU61) که دارای حذف هموزیگوت ژن TUSC1 بودند، می‌توانند بر روی رشد و تکثیر سلولی اثر بگذارد. در این مطالعه مهار تکثیر سلولی در لاین‌های سلولی و همچنین کاهش رشد توموری در موجود زنده مشخص شد (۱۱). به علاوه با توجه به اطلاعات مشخص شده در مطالعه دیگری، وارد کردن TUSC1 در سلول‌های سرطانی گلیوبلاستوما عمدتاً رشد سلولی را کم می‌کند. در این مطالعه نیز بیان TUSC1 در بافت سرطانی گلیوبلاستوما کاهش می‌یابد و همچنین افزایش بیان TUSC1 رشد تومور را در in vivo به تأخیر می‌اندازد (۱۵). در بررسی این ژن در سرطان کارسینومای هپاتوسلولار (HCC) نیز به عنوان ژن مهارکننده توموری معرفی شده است و مهار TUSC1 می‌تواند به عنوان یک رویداد ویژه در مرحله نهایی تکوین HCC مورد توجه قرار گیرد (۱۰).

نتایج مطالعه ما نشان داد که TUSC1 به طور قابل توجهی در نمونه‌های بافتی سرطان پستان کاهش بیان دارد و این کاهش بیان در TUSC1 با پیش‌آگهی پایین در بیماران همراه است. همچنین با توجه به مطالعه حاضر می‌توانیم بیان کنیم که میزان متاستاز با تراز بیان ژن TUSC1 رابطه عکس دارد و در حالت متاستاز در سرطان پستان بیان ژن به مقدار زیادی کاهش می‌یابد. این نتایج با یافته‌های موجود در سایر مطالعات مطابقت دارد. کاهش بیان ژن در حالت متاستاز می‌تواند ارتباط ژن را در چرخه سلولی و تکثیر سلول‌ها مشخص کند؛ اما در نتایج حاصله ارتباطی میان بیان ژن با اندازه و درجه توموری مشاهده نشد که البته به دلیل تقسیم نمونه‌های توموری در سه گروه چنین ارتباطی دور از انتظار نیست. نکته دیگر بررسی درجه توموری این است که با وجود افزایش بیان این ژن مهارکننده توموری در درجه ۳ تومور، چنین نتیجه‌ای با وجود تکامل کلونال و چنین رفتاری در ژن‌های مهارکننده توموری دیگر مانند P53 کاملاً قابل توجیه است (۱۶). البته به دلیل مشخص نشدن عملکرد این ژن در سلول بحث در این مورد امکان‌پذیر نیست. در بررسی ارتباط سن کاهش بیان ژن در افراد بالای ۴۵ سال مشاهده شد، بنابراین فاکتور مورد نظر می‌تواند به عنوان یک بیومارکر آگاهی‌دهنده در افراد بیمار با سن بالا مورد توجه قرار گیرد. نکته قابل توجه در این مطالعه این است که تنها مطالعات انجام شده در مورد این ژن تنها ۳ مطالعه بر روی سرطان ریه، کبد و معده است و هنوز مکانیسم عملکرد این ژن مشخص نشده است، بنابراین بحث در مورد عملکرد ژن در قسمت‌های مختلف بررسی بسیار مشکل می‌باشد.

از طرفی، بررسی توالی ژن TUSC1 نشان داد که این ژن دارای یک جزیره CpG در درون اگزون خود می‌باشد که حدس زده می‌شود متیلاسیون نا به‌جا در این ناحیه، یک مکانیسم بالقوه برای تنظیم بیان ژن TUSC1 می‌باشد. رونویسی این ژن در سلول‌های Hep3B، HepG2 و HuH2 به میزان قابل توجهی کاهش یافته و این همراه با هایپر متیلاسیون درون ژنی در این سلول‌ها است. در نمونه‌های بافتی سرطان HCC با هایپرمتیلاسیون درون ژنی TUSC1، به صورت عمده کاهش بیان در رونوشت ژن مشاهده شد (۱۰،۱۷). این حالت با مرحله پیشرفته سرطان و بعد از آن پیش‌آگهی پایین بیماری همراه بود. همچنین در مطالعات مختلف به خوبی مشخص شده است که تغییرات ژنتیکی در بازوی کوتاه کروموزوم ۹ شامل وارونگی، از دست دادن هتروزیگوسیتی (LOH) و حذف هموزیگوت در چندین نوع از سرطان‌های انسانی از جمله، ریه و معده وجود دارد. حدس زده می‌شود که بازوی کوتاه کروموزوم ۹ احتمالاً شامل لوکوس‌های مهمی برای ژن‌های مهارکننده توموری باشد (۱۸،۱۹). در این ناحیه دو لوکوس کاندید مهارکننده توموری وجود دارد (۲۰،۲۱) و ژن TUSC1 نیز با وجود خصوصیات ویژه مانند عدم وجود اینترون و دارا بودن جزیره CpG درون ژنی، در این ناحیه قرار دارد (۱۱). با این وجود نقش عملکردی آن در سرطان‌های مختلف مشخص نشده است.

نتیجه‌گیری

درمجموع مطالعه حاضر نشان داد که میزان بیان ژن TUSC1 در سرطان پستان کاهش بیان مشخصی داشته و همچنین در متاستاز سرطان به گره‌های لنفی نیز نقش دارد. به صورتی که کاهش بیان ژن در حالت متاستاز قابل توجه است و می‌تواند به عدم تنظیم در تکثیر و تزاید سلولی نسبت داده شود؛ بنابراین یکی از نقش‌های احتمالی ژن اثر آن در تنظیم چرخه تکثیر سلولی پیش‌بینی می‌شود. درنتیجه به نظر می‌رسد انجام مطالعات تکمیلی جهت تعیین مکانیسم دقیق آن در سرطان‌های مختلف و از جمله سرطان پستان ضروری باشد.

سپاسگزاری

مراتب سپاسگزاری خود را از تمامی افرادی که در انجام این مطالعه ما را یاری دادند به جا می‌آوریم، به خصوص بیمارانی که در مرحله نمونه‌گیری با ما همکاری نمودند. این مقاله مربوط به نتایج پایان‌نامه کارشناسی ارشد نویسنده اول می‌باشد.

References:

1-DeSantis CE, Fedewa SA, Goding Sauer A, Kramer JL, Smith RA, Jemal A. ***Breast cancer statistics, 2015: Convergence of incidence rates between black and white women.*** CA: a cancer j clinicians 2016; 66(1): 31-42.

2-Parkin DM, Bray F, Ferlay J, Pisani P. ***Global cancer statistics, 2002.*** CA: a cancer j clinicians 2005; 55(2): 74-108.

3-Karami F, Mehdipour P. ***A Comprehensive Focus on Global Spectrum of BRCA1 and BRCA2 Mutations in Breast Cancer.*** BioMed research international 2013; 2013.

4-Berek JS. ***Novak's gynecology***. Journal of Midwifery & Women's Health. 2003 May 6;48(3):237-8.

5-Vuong D, Simpson PT, Green B, Cummings MC, Lakhani SR. ***Molecular classification of breast cancer.*** Virchows Archiv 2014; 465(1): 1-14.

6-Kuusisto KM, Bebel A, Vihinen M, Schleutker J, Sallinen S-L. ***Screening for BRCA1, BRCA2, CHEK2, PALB2, BRIP1, RAD50, and CDH1 mutations in high-risk Finnish BRCA1/2-founder mutation-negative breast and/or ovarian cancer individuals.*** Breast Cancer Res 2011; 13(1): 20.

7-Dunn BK, Wagner PD, Anderson D, Greenwald P, editors. ***Molecular markers for early detection.*** Seminars in oncology 2010: 37(3): 224-42 Elsevier.

8-Shan Z, Parker T, Wiest JS. ***Identifying novel homozygous deletions by microsatellite analysis and characterization of tumor suppressor candidate 1 gene, TUSC1, on chromosome 9p in human lung cancer.*** Oncogene 2004; 23(39): 6612-20.

9-Kanda M, Shimizu D, Nomoto S, Hibino S, Oya H, Takami H, et al. ***Clinical significance of expression and epigenetic profiling of TUSC1 in gastric cancer.*** J surgical oncology 2014; 110(2): 136-44.

10- Shimizu D, Kanda M, Nomoto S, Oya H, Takami H, Hibino S, et al. ***Identification of intragenic methylation in the TUSC1 gene as a novel prognostic marker of hepatocellular carcinoma.*** Oncology reports 2014; 31(3): 1305-13.

11- Shan Z, Shakoori A, Bodaghi S, Goldsmith P, Jin J, Wiest JS. ***TUSC1, a putative tumor suppressor gene, reduces tumor cell growth in vitro and tumor growth in vivo.*** PloS one 2013; 8(6): e66114.

12- Stephens PJ, Tarpey PS, Davies H, Van Loo P, Greenman C, Wedge DC, et al. ***The landscape of cancer genes and mutational processes in breast cancer.*** Nature 2012; 486(7403): 400-4.

13- Shah R, Rosso K, Nathanson SD. ***Pathogenesis, prevention, diagnosis and treatment of breast cancer.*** World J Clin Oncol 2014; 5(3): 283-98.

14- DeSantis CE, Lin CC, Mariotto AB, Siegel RL, Stein KD, Kramer JL, et al. ***Cancer treatment and survivorship statistics, 2014.*** CA: a cancer j clinicians 2014; 64(4): 252-71.

15- Zhang R, Yu W, Liang G, Jia Z, Chen Z, Zhao L, et al. ***Tumor Suppressor Candidate 1 Suppresses Cell Growth and Predicts Better Survival in Glioblastoma.*** Cellular and molecular neurobiology 2017; 37(1): 37-42.

16- Huang K, Chen L, Zhang J, Wu Z, Lan L, Wang L, et al. ***Elevated p53 expression levels correlate with tumor progression and poor prognosis in patients exhibiting esophageal squamous cell carcinoma.*** Oncology letters 2014; 8(4): 1441-6.

17- Maunakea AK, Nagarajan RP, Bilenky M, Ballinger TJ, D'Souza C, Fouse SD, et al. ***Conserved role of intragenic DNA methylation in regulating alternative promoters.*** Nature 2010; 466(7303): 253-7.

18- Wiest JS, Franklin WA, Otstot JT, Forbey K, Varella-Garcia M, Rao K, et al***. Identification of a novel region of homozygous deletion on chromosome 9p in squamous cell carcinoma of the lung: the location of a putative tumor suppressor gene.*** Cancer research 1997; 57(1): 1-6.

19- Mead LJ, Gillespie MT, Hung JY, Rane US, Rayeroux KC, Irving LB, et al. ***Frequent loss of heterozygosity in early non-small cell lung cancers at chromosome 9p21 proximal to the CDKN2a gene.*** International j cancer 1997; 71(2): 213-7.

20- Pollock PM, Welch J, Hayward NK. ***Evidence for three tumor suppressor loci on chromosome 9p involved in melanoma development.*** Cancer research 2001; 61(3): 1154-61.

Cairns P, Polascik TJ, Eby Y, Tokino K, Califano J, Merlo A, et al. ***Frequency of homozygous deletion at p16/CDKN2 in primary human tumours.*** Nature genetics 1995; 11(2): 210-2.

Study of the expression of TUSC1 (Tumor suppressor candidate gene 1) in breast cancer tissue samples and correlation with *tumorgenesis*

Hadi Abdolrezaee [1], Somayeh Reiisi [2*], Leila Rouhi [3]

[1] Department of Genetic, Islamic Azad University, Shahrekord Branch, Shahrekord, Iran
[2] Department of Genetic, Faculty of Basic Sciences, Shahrekord University, Shahrekord, Iran
[3] Department of Biology, Islamic Azad University, Shahrekord Branch, Shahrekord, Iran

Received: 20 Apr 2017 **Accepted:** 16 Sep 2017

Abstract

Introduction: Breast cancer remains the prominent cause of mortality in women. Several biomarkers are used to evaluation the response and targeting to therapy. Tumor suppressor candidate 1 (TUSC1) gene was newly identified as a probable tumor suppressor in human cancers. Nevertheless, the expression and potential function of TUSC1 in breast cancer stay undecided. Therefore, this study aimed the evaluation of TUSC1 gene expression in breast tumor samples.

Methods: In this case-control study, 40 formalin-fixed paraffin embedded (FFPE) tumoral of breast cancer and 40 healthy tissues were enrolled. Followed were informed consent and completing clinical information for all samples. Total RNA was extracted and complementary DNA (cDNA) was synthesized. The relative gene expression was determined using quantitative real-time RT PCR (qRT-PCR) and evaluated by $2^{-\Delta\Delta ct}$ method.

Results: The expression of TUSC1 gene was lower in tumor tissue compared to the healthy tissue adjacent and it was statistically significant (P =0.0003). Also, in metastatic state gene expression significantly decreased (P=0.027).

Conclusion: Our study revealed that the expression of TUSC1 is lower in breast cancer. Subsequently, using considering all the data about the expression of TUSC1 gene from some cancers (e.g. Lung, Hepatocellular and gastric), it could be suggested that the TUSC1 gene might act as a tumor suppressor in breast cancer and influenced in metastasis. Therefore, supplementary studies should be done to elucidate the exact mechanism of action of the gene in tumor-genesis.

Keywords: TUSC1 gene, Breast cancer, *tumor-genesis*, Real-time PCR

This paper should be cited as:
Abdolrezaee H, Reiisi S, Rouhi L. **Study of the expression of TUSC1 (Tumor suppressor candidate gene 1) in breast cancer tissue samples and correlation with *tumorgenesis*.** J Shahid Sadoughi Univ Med Sci 2017; 25(6): 476-84.

***Corresponding author: Tel: 0383232440, email: s.reiisi@yahoo.com**