

بررسی ارتباط چندشکلی K589E، ژن EXO1 با خطر ابتلا به سرطان ریه به‌عنوان یک بیومارکر بالینی در جمعیت ایرانی

چکیده

دریافت: ۱۴۰۲/۰۷/۱۹ ویرایش: ۱۴۰۲/۰۷/۲۵ پذیرش: ۱۴۰۲/۰۸/۲۴ آنلاین: ۱۴۰۲/۰۹/۰۱

زمینه و هدف: سرطان ریه در ایران سومین نوع سرطان شایع بوده و فرکانس آن به‌سرعت در حال افزایش است. EXO1 یک ژن تعمیری بوده که نقش مهمی در ترمیم ناجور جفت‌شدگی DNA ایفا می‌نماید. پلی‌مورفیسم K589E در ژن EXO1 می‌تواند با بروز سرطان ریه مرتبط باشد. هدف از این مطالعه بررسی ارتباط پلی‌مورفیسم K589E ژن EXO1 با خطر بروز سرطان ریه به‌عنوان بیومارکر بالینی در جمعیت ایرانی است.

روش بررسی: این مطالعه موردی-شاهدی در فاصله زمانی بهمن ۱۳۹۸ تا خرداد ۱۴۰۱ در جمعیت مبتلا به سرطان ریه و افراد سالم در بیمارستان خوانساری شهر اراک انجام شد. در مجموع ۱۰۰ بیمار مبتلا به سرطان ریه و ۱۰۰ فرد سالم با استفاده از تکنیک PCR-RFLP مورد بررسی قرار گرفتند.

یافته‌ها: آنالیز آماری ژنوتیپ‌ها و آلل‌های پلی‌مورفیسم K589E ژن EXO1 در دو گروه بیمار و سالم نشان داد که ژنوتیپ AA (۱۷/۲۰۰-۱۷/۶۹۰، CI=۰/۹۵، OR=۵/۳۹۱، P=۰/۰۰۴) و آلل A (۶۳۰۰-۱/۲۹۱، CI=۰/۹۵، OR=۲/۸۵۱، P=۰/۰۱۰) این پلی‌مورفیسم ارتباط معناداری با خطر ابتلا به سرطان ریه دارد. در مقابل، ژنوتیپ GG و آلل G این پلی‌مورفیسم یک نقش محافظتی در برابر خطر ابتلا به سرطان ریه از خود نشان دادند.

نتیجه‌گیری: با توجه به نتایج حاصل، چند شکلی K589E ژن EXO1 می‌تواند به‌عنوان یک نشانگر زیستی در مطالعات پیشگویی بالینی در ارتباط با خطر ابتلا به سرطان ریه مورد استفاده قرار گیرد، هرچند مطالعات بیشتری با اندازه جمعیت بالا مورد نیاز است.

کلمات کلیدی: اگزونوکلئاز، سرطان ریه، واکنش زنجیره‌ای پلی‌مراز، چندشکلی تک نوکلئوتیدی.

جمشید انصاری^{۱*}، میلاد پزشکی^۲، اعظم احمدی^۳، علی چهره‌بی^۳

۱- گروه رادیوانکولوژی، بیمارستان آیت الله خوانساری، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی اراک، اراک، ایران.

۲- مرکز تحقیقات بیماری‌های عفونی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی اراک، اراک، ایران.

۳- گروه پاتولوژی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی اراک، اراک، ایران.

* نویسنده مسئول: اراک، خیابان دانشگاه، بیمارستان آیت الله خوانساری، بخش رادیوتراپی.

تلفن: ۰۸۶-۳۳۶۵۰۰۱

E-mail: Jamshidsa@yahoo.com

مقدمه

به‌طور قابل توجهی افزایش یافته است.^۱ به‌طوری که تقریباً ۱/۶ میلیون نفر در سال بر اثر ابتلا به سرطان ریه می‌میرند.^۲ مطالعات صورت گرفته نشان داد که حدود ۸٪ موارد سرطان ریه صرفاً به‌دلیل عوامل ارثی است.^۳ سرطان ریه در نیمکره غربی دومین سرطان رایج است^۴ بالاترین میزان بروز سرطان ریه در آمریکای شمالی، اروپا و شرق آسیا و در مقابل میزان بروز آن در آفریقا و جنوب آسیا پایین‌تر است.^۵ مرگومیر سرطان ریه در کشورهای توسعه یافته نسبت به کشورهای

سرطان ریه سرطانی است که بیشترین میزان بروز و مرگومیر را در سراسر جهان داشته است.^۱ معمولاً در مراحل پیشرفته تشخیص داده می‌شود.^۲ کارسینوم ریه یک تومور بدخیم ریوی است که با رشد سلولی کنترل‌نشده در بافت‌های ریوی سلامت و زندگی انسان را تهدید می‌کند.^۳ میزان بروز و مرگومیر سرطان ریه در سراسر جهان

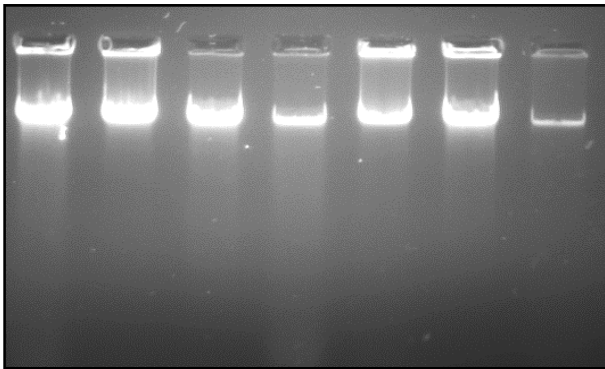
تاثیر قرار داده و با تغییر عملکرد طبیعی می‌تواند ظرفیت تعمیری DNA را کاهش و احتمال خطر ابتلا به سرطان ریه را افزایش دهد.^{۲۲} بسیاری از مطالعات صورت گرفته نشان می‌دهد که این پلی‌مورفیسم تک نوکلئوتیدی با خطر ابتلا به سرطان‌های ریه، گلیوما و سرطان معده نیز ارتباط دارد.^{۲۳-۲۵} در مطالعه صورت گرفته توسط Jin و همکاران در کشور چین ارتباط معنی‌داری میان پلی‌مورفیسم rs1047840 و خطر ابتلا به سرطان ریه مشاهده گردید.^{۲۱} در متآنالیز صورت گرفته در مطالعه توسط Tang و همکاران بر روی ۱۹ مطالعه، مشخص شد که ارتباط معناداری میان آلل A پلی‌مورفیسم rs1047840 و خطر ابتلا به سرطان ریه وجود دارد.^{۲۶} مطالعات صورت گرفته دیگری نیز ارتباط این پلی‌مورفیسم را با خطر ابتلا به سرطان‌های مختلف از جمله کلورکتال، معده، دهان و پستان گزارش نموده‌اند.^{۱۷-۲۹} هدف از انجام این مطالعه بررسی ارتباط چندشکلی K589E ژن EXO1 با خطر ابتلا به سرطان ریه به‌عنوان یک بیومارکر بالینی در جمعیت ایرانی می‌باشد.

روش بررسی

این مطالعه موردی-شاهدی پس‌از دریافت کد اخلاق (IR.ARAKMU.REC.1398.205) از کمیته اخلاق دانشگاه علوم پزشکی اراک در فاصله زمانی بهمن ۱۳۹۸ تا خرداد ۱۴۰۱ در جمعیت مبتلا به سرطان ریه و افراد سالم واقع در استان مرکزی در مرکز تحقیقات بیماری‌های عفونی دانشگاه علوم پزشکی اراک انجام شد. حجم نمونه براساس آلفای ۰/۵، پاور ۰/۸۰، نسبت برابر دو گروه و برابر درصد وجود پلی‌مورفیسم در دو گروه بیمار و سالم با استفاده از فرمول مقایسه نسبت‌ها حدود صد نفر در هر گروه محاسبه گردید. روش نمونه‌گیری به‌صورت تصادفی در دسترس بود. بر این اساس ۱۰۰ نمونه خونی از جامعه بیماران مبتلا به سرطان ریه (تایید توسط پاتولوژیست پس‌از انجام آزمایشات پاتولوژی) که جهت انجام فرایند درمان به بیمارستان آیت‌الله خوانساری اراک مراجعه کرده بودند، جمع‌آوری گردید. همچنین ۱۰۰ نمونه خون افراد سالم از مرکز بهداشت شهر اراک دریافت شد. افراد دو گروه بیمار و سالم از نظر سن و جنسیت مج (Match) شدند و سپس داده‌های دموگرافی دو گروه مذکور و پاتولوژی بیماران در قالب یک پرسشنامه جمع‌آوری

کمتر توسعه یافته بالاتر و در مردان بیشتر از زنان است.^۹ در ایران نیز سرطان ریه در رده هفتم در مردان و رده دهم در زنان قرار دارد و به‌ترتیب دومین و سومین عامل مرگ ناشی از سرطان در میان مردان و زنان محسوب می‌گردد.^{۱۰} میزان بروز این سرطان در ایران روز به روز در حال افزایش است.^{۱۱} تخمین زده شده است که بیش از ۱۳٪ از موارد جدید تشخیصی سرطان و تقریباً ۲۷٪ از مرگ‌ومیر کل ناشی از سرطان، به سرطان ریه مربوط می‌گردد.^{۱۲} در میان عوامل خطر شناخته شده در ارتباط با افزایش خطر ابتلا به سرطان ریه، مصرف دخانیات قوی‌ترین ارتباط را دارد.^۴ فاکتور ژنتیک، افزایش سن، گاز رادون، آلودگی هوا، آزبست و فلزات سنگین از دیگر عوامل خطر سرطان ریه می‌باشند.^{۱۳، ۱۴} کشف بالایی این سرطان به همراه تشخیص در مراحل پیشرفته، محققان را مجاب به کشف و بررسی مارکرهای مولکولی می‌کند که از اهمیت بالایی برخوردار بوده و کاربرد آن در حوزه پیشگویی بالینی و تشخیص زود رس می‌تواند نقش مهمی در کاهش خطر ابتلا و بهبود روند درمانی داشته باشد. بنابراین شکی نیست که مارکرهای مولکولی پیش‌آگهی و پیش‌بینی جدید مورد نیاز است.^{۱۵، ۱۶} مطالعات نشان داده است، که میان تغییرات ژنتیکی در سیستم‌های ترمیمی DNA و خطر بروز سرطان ریه ارتباط وجود دارد.^{۱۷} ژن Exonuclease1 که به اختصار EXO1 گفته می‌شود، به‌عنوان یک ژن تعمیری عضوی از خانواده RAD52 می‌باشد.^{۱۸} EXO1 در جایگاه کروموزومی 1q42-q43 واقع شده است، شامل یک اگزون غیرقابل ترجمه و ۱۳ اگزون کدکننده که می‌تواند یک پروتیین ۸۴۶ اسید آمینه‌ای را کدگذاری کند. محصول ژن EXO1 دارای عملکردی مهم در فرایند همانندسازی DNA، ترمیم ناچور جفت‌شدگی و جلوگیری از وقوع جهش و همچنین نوترکیبی DNA دارد.^{۱۹} نقص در این سیستم تعمیری جهت تشکیل و توسعه سرطان‌های مختلف از جمله سرطان ریه ضروری می‌باشد.^{۲۰} مطالعات مختلف نشان داد که تغییرات موجود در این ژن نظیر جهش‌ها، پلی‌مورفیسم‌ها با خطر ابتلا به سرطان ریه همراه است.^{۲۱} اخیراً، ارتباط بین پلی‌مورفیسم‌های ژن EXO1 و خطر ابتلا به سرطان ریه و دیگر سرطان‌ها به طور گسترده مورد بررسی قرار گرفته است. در میان این پلی‌مورفیسم‌ها، پلی‌مورفیسم rs1047840 یک پلی‌مورفیسم غیرعادی بوده که منجر به تغییر اسید آمینه شماره ۵۸۹ از لایزین به گلوتامیک اسید در پروتیین EXO1 شده و می‌تواند بیان ژن EXO1 را تحت

MseI، ۱/۵ میکرولیتر بافر مخصوص این آنزیم، ۵/۶ میکرولیتر آب استریل و ۷/۵ میکرولیتر محصول PCR آماده گردید و در دمای 37°C به مدت سه ساعت مورد برش آنزیمی قرار گرفت. در حضور آلل موتانت A، برش آنزیمی دو قطعه ۱۱۰ و ۱۹۶ و در حضور آلل وحشی G جایگاه برش وجود نخواهد داشت و باند ۳۰۶ جفت‌بازی حاصل خواهد شد و در صورت هتروزیگوت بودن هر سه قطعه گفته شده حاصل می‌گردد. پس از برش آنزیمی، محصولات حاصل با استفاده از ژل آگارز ۳٪ حاوی ماده فلورسانس DNA Green Viewer (SinaClon BioScience Co, Karaj, Iran) الکتروفورز گردید (شکل ۳). جهت بررسی ارتباط چندشکلی مورد مطالعه با خطر ابتلا به سرطان یه از روش آماری رگرسیون لجستیک و محاسبه Chi-square test و با در نظر گرفتن مقدار $P < 0.05$ به عنوان سطح معناداری و همچنین محاسبه نسبت خطر نسبی (OR) با فاصله اطمینان (۹۵٪ CI) با به‌کارگیری SPSS software, version 20 (IBM SPSS, Armonk, NY, USA) صورت گرفت.



شکل ۱: نتایج حاصل از استخراج DNA از نمونه‌های خونی مورد مطالعه

شد. استخراج DNA براساس پروتکل کیت DNG-Plus (SinaClon BioScience Co, Karaj, Iran) انجام گردید.

سپس کیفیت و کمیت DNA استخراج شده و مقدار خلوص آن با استفاده از دستگاه اسپکتروفومتر و بارگذاری بر روی ژل آگارز مشخص گردید. در شکل ۱ کیفیت نمونه‌های DNA استخراج شده بر روی ژل آگارز ۱٪ نشان داده شده است. نمونه‌ها پس از استخراج با به‌کارگیری روش (Polymerase chain reaction-restriction fragment length polymorphism, PCR-RFLP) چندشکلی K589E ژن EXO1 توسط آنزیم محدودگر MseI (New England Biolab, Hitchin, United Kingdom) ژنوتیپ شدند. جهت انجام واکنش PCR از پرایمرهای موجود در جدول ۱ استفاده گردید. واکنش PCR در حجم نهایی ۲۵ میکرولیتر، شامل ۱۰ میکرولیتر مسترمیکس، ۱/۵ میکرولیتر پرایمر فرورارد و ۱/۵ میکرولیتر پرایمر ریورز (Pishgam BioScience Co, Tehran, Iran)، ۷ میکرولیتر آب دو بار تقطیر و ۵ میکرولیتر DNA استخراج شده انجام گرفت.

تکثیر قطعه مورد نظر با استفاده از یک مرحله ابتدایی و اسرشته‌سازی در دمای 94°C به مدت ۴۵ ثانیه، دمای اتصال آغازگرها 58°C به مدت ۴۵ ثانیه و دمای تکثیر 72°C به مدت ۷۲ ثانیه و یک دمای تکثیر نهایی 72°C به مدت هفت دقیقه استفاده شد. محصولات PCR روی ژل آگارز ۲٪ که حاوی DNA Green Viewer ران شده و سپس با استفاده از دستگاه ژل داگ مشاهده و عکس‌برداری شدند (شکل ۲). برای تشخیص قطعات تکثیر شده از لدر ۱۰۰ جفت‌بازی (SinaClon BioScience Co, Karaj, Iran) استفاده شد. پس از تایید صحت اندازه باند تکثیری، محصولات حاصل از PCR تحت عمل هضم آنزیمی آنزیم محدودگر BseRI قرار گرفتند. واکنش برش آنزیمی در حجم ۱۵ میکرولیتر حاوی ۰/۴ میکرولیتر آنزیم

جدول ۱: توالی پرایمرهای استفاده شده جهت تکثیر چندشکلی K589E ژن EXO1

ژن	چندشکلی	جایگاه	توالی آغازگر (۳'–۵')	اندازه محصول
EXO1	rs1047840 (K589E)	آگزون ۱۲	F: 5'-GACACAGATGTAGCACGTAA-3' R: 5'-CTGCGACACATCAGACATAT-3'	۳۰۶ جفت‌باز

ژنوتیپ‌ها و آلل‌های پلی‌مورفیسم مورد مطالعه با خطر ابتلا به سرطان ریه در جدول ۳ نشان داده شده است.

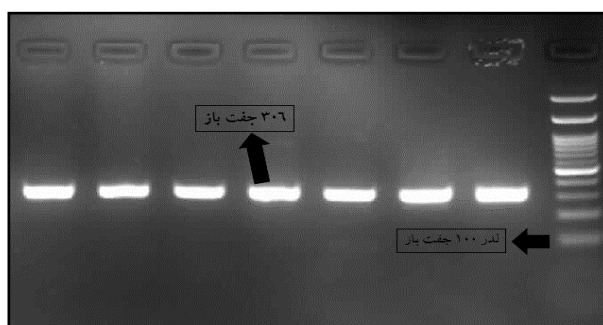
مطابق جدول ۳، فراوانی ژنوتیپ GG در گروه بیمار و کنترل به ترتیب ۵۸٪ و ۷۸٪ بود. آنالیزهای آماری نشان داد که ژنوتیپ GG دارای نقش حفاظتی در برابر خطر ابتلا به سرطان ریه دارد. در مقابل فراوانی ژنوتیپ AA در بیماران چهار برابر بیشتر از گروه کنترل بوده به طوری که ارتباط معناداری با خطر ابتلا به سرطان ریه داشت (P=۰/۰۰۴، OR=۵/۳۹۱، CI=۰/۹۵-۱۷/۲۰۰، ۱/۶۹۰-۱۷/۲۰۰).

فراوانی آلل A در گروه بیمار و کنترل به ترتیب ۳۱٪ و ۱۳/۵٪ بود. بررسی آماری فراوانی آللی در دو گروه بیمار و کنترل نشان داد که آلل A پلی‌مورفیسم K589E ژن EXO1 با خطر ابتلا به سرطان ریه ارتباط معناداری داشته (P=۰/۰۱۰، OR=۲/۸۵۱، CI=۰/۹۵-۱۷/۲۹۱، ۱/۶۹۰-۱۷/۲۰۰) و در مقابل آلل G این پلی‌مورفیسم به عنوان یک فاکتور حفاظتی ایفای نقش می‌نماید. ارتباط میان ژنوتیپ‌های پلی‌مورفیسم rs1047840 ژن EXO1 با درجه تومور (T)، وضعیت درگیری گره‌های لنفاوی (N) و وضعیت متاستاز (M) مورد بررسی قرار گرفت. براساس نتایج به دست آمده در جدول چهار هیچ‌گونه ارتباط معناداری میان ژنوتیپ‌های پلی‌مورفیسم مورد مطالعه با درجه توموری (T1+T2) در برابر (T3+T4)، وضعیت گره لنفاوی (درگیری در برابر عدم درگیری) و وضعیت متاستاز (وجود در برابر عدم وجود) وجود نداشت.

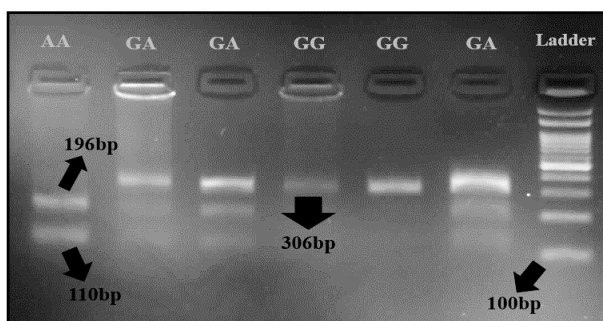
بحث

سرطان ریه شایعترین سرطان در سراسر جهان است که میزان مرگ‌ومیر بالایی در مردان و زنان دارد. در ایران سرطان ریه سومین نوع سرطان شایع بوده و فراوانی آن به سرعت در حال افزایش است. میزان بالای مرگ‌ومیر به این دلیل است که بیماران اغلب در مراحل پیشرفته بیماری تشخیص داده می‌شوند. بنابراین وجود مارکرهای مولکولی جهت تشخیص زودهنگام سرطان ریه ضروری است. مطالعات نشان دادند که واریانت‌های ژنتیکی زیادی وجود دارد که به‌طور قابل توجهی با بروز سرطان ریه مرتبط هستند.^{۱۱۵}

شناسایی چندشکلی‌های دخیل در بروز سرطان ریه می‌تواند به‌عنوان بیومارکرهای زیستی در حوزه پیش‌آگهی خطر ابتلا به سرطان



شکل ۲: توالی تکثیرشده مربوط به پلی‌مورفیسم rs1047840 ژن EXO1 بر روی ژل آگارز



شکل ۳: تصویر ژل حاصل از هضم آنزیمی پلی‌مورفیسم مذکور با آنزیم محدودگر MseI

یافته‌ها

مطابق جدول ۲، رده سنی در بیماران و افراد سالم به ترتیب ۸۱-۳۳ و ۸۸-۴۴ (۶۱/۵±۱۰/۷۰) و (۶۲/۴۵±۱۱/۴۷) بود. مقایسه رنج سنی در دو گروه بیمار و سالم اختلاف معناداری را نشان نداد (P=۰/۴۲۹). همچنین متغیر جنسیت در افراد مورد مطالعه از لحاظ معنی‌دار بودن در هر دو گروه مورد بررسی قرار گرفت و مشخص شد که اختلاف معناداری میان جنسیت در دو گروه کنترل و بیمار وجود ندارد (P=۰/۳۸۵) اطلاعات مربوط به وضعیت مصرف سیگار در دو گروه نشان داد که حدود ۴۲٪ بیماران در طول زندگی خود سیگار مصرف نموده‌اند در مقابل تنها ۲۱٪ از افراد گروه کنترل در طول زندگی خود سابقه مصرف سیگار داشته‌اند. بررسی‌های آماری نشان داد که اختلاف معناداری میان مصرف سیگار در دو گروه وجود داشت، به عبارت دیگر مصرف سیگار خطر ابتلا به سرطان ریه را افزایش می‌دهد (P=۰/۰۰۴) نتایج حاصل از آنالیز آماری ارتباط

در تعمیر ناجور جفت‌شدگی‌ها و حفظ ثبات ژنوم دارد. نقص در این سیستم تعمیری جهت تشکیل و توسعه سرطان‌های مختلف از جمله سرطان ریه ضروری می‌باشد. تعمیر ناجور جفت‌شدگی مهم‌ترین وظیفه این ژن در جلوگیری از بروز بدخیمی‌ها از جمله سرطان ریه است.^{۱۸-۲۱}

ریه مورد استفاده قرار گیرد. در این مطالعه‌ی موردی-شاهدی که بر روی ۱۰۰ فرد مبتلا به سرطان ریه و ۱۰۰ فرد سالم صورت گرفت، ارتباط پلی‌مورفیسم rs1047840 ژن EXO1 با خطر ابتلا به سرطان ریه در جمعیت ایرانی مورد بررسی قرار گرفت. ژن EXO1 به‌عنوان یک ژن تعمیری عضوی از خانواده RAD52 می‌باشد که نقش مهمی

جدول ۲: مشخصات دموگرافی گروه کنترل و بیمار به همراه اطلاعات پاتولوژی بیماران

متغیر	حالت تعریف شده	گروه بیمار (فراوانی)	گروه کنترل (فراوانی)	P
سن (سال)	کمتر از ۶۰	۵۴	۴۸	۰/۴۲۹
	بیشتر یا مساوی ۶۰	۴۶	۵۲	
	میانگین	۶۲/۴۵	۶۱/۵۰	
جنس	انحراف معیار	۱۱/۴۷	۱۰/۷۰	۰/۷۵۳
	مرد	۷۴	۶۸	
	زن	۲۶	۳۲	
وضعیت مصرف سیگار	بله	۴۲	۲۱	۰/۰۰۴
	خیر	۵۸	۷۹	
اطلاعات پاتولوژی بیماران	نوع سرطان ریه	درجه تومور (T)	گره لنفاوی (N)	وضعیت متاستاز (M)
فراوانی (تعداد)	سلول کوچک=۵۰	T1=۱۲	N0=۴۰	مثبت=۷۰
	سلول غیرکوچک=۵۰	T2=۲۸	N1=۲۲	منفی=۳۰
		T3=۲۵	N2=۱۷	
		T4=۳۵	N3=۲۱	

آزمون آماری: Chi-square test, P<۰/۰۵ معنادار در نظر گرفته شد.

جدول ۳: بررسی ارتباط ژنوتیپ‌ها و آلل‌های پلی‌مورفیسم مورد مطالعه با خطر ابتلا به سرطان ریه

ژنوتیپ	گروه بیمار (تعداد)(درصد)	گروه کنترل (تعداد) (درصد)	خطر نسبی	ضریب اطمینان ۹۵٪	P
GG	۵۸(۵۸)	۷۸(۷۸)	مرجع	مرجع	۰/۰۸۷
GA	۲۲(۲۲)	۱۷(۱۷)	۰/۹۱۱	۰/۵۴۹-۱/۱۰۸	
AA	۲۰(۲۰)	۵(۵)	۵/۳۹۱	۱/۶۹۰-۱۷/۲۰۰	
فراوانی کل	۱۰۰	۱۰۰			
آلل					
G	۱۳۸(۶۹)	۱۷۳(۸۶/۵)	مرجع	مرجع	۰/۰۱۰
A	۶۲(۳۱)	۲۷(۱۳/۵)	۲/۸۵۱	۱/۲۹۱-۶/۳۰۰	
فراوانی کل	۲۰۰	۲۰۰			

آزمون آماری: Chi-square test, P<۰/۰۵ معنادار در نظر گرفته شد.

جدول ۴: بررسی ارتباط ژنوتیپ‌های پلی‌مورفیسم مورد مطالعه با سیستم مرحله‌بندی (TNM)

P	ضریب اطمینان ۹۵٪	خطر نسبی	درجه تومور (T)		ژنوتیپ
			فراوانی T1+T2	فراوانی T3+T4	
	مرجع	مرجع	۹	۱۱	AA
۱/۰۰	۰/۵۴۹-۱/۱۰۸	۱/۰۰	۱۱	۱۱	GA
۰/۵۲۴	۰/۳۳۲-۰/۹۷۲	۰/۶۸۶	۲۰	۳۸	GG
گره لفاوی (N)					
P	ضریب اطمینان ۹۵٪	خطر نسبی	عدم‌درگیری (N-)	درگیری (N+)	ژنوتیپ
	مرجع	مرجع	۱۰	۱۰	AA
۰/۳۲۷	۰/۱۲۵-۱/۰۰۹	۰/۵۰۰	۷	۱۵	GA
۰/۴۴۹	۰/۲۰۵-۱/۰۲۰	۰/۶۴۳	۲۳	۳۵	GG
وضعیت متاستاز (M)					
P	ضریب اطمینان ۹۵٪	خطر نسبی	منفی (M-)	مثبت (M+)	ژنوتیپ
	مرجع	مرجع	۵	۱۵	AA
۰/۶۳۲	۰/۱۹۱-۱/۷۳۷	۰/۷۲۲	۱۰	۱۲	GA
۰/۳۱۱	۰/۱۱۷-۰/۹۸۲	۰/۴۸۱	۱۵	۴۳	GG

آزمون آماری: Chi-square test, P<۰/۰۵ معنادار در نظر گرفته شد.

ارتباط بین پلی‌مورفیسم‌های ژن EXO1، پلی‌مورفیسم rs1047840 یک پلی‌مورفیسم مهم از نظر ارتباط شدید آن با بروز سرطان ریه بوده و منجر به تغییر اسید آمینه شماره ۵۸۹ از لایزین به گلوتامیک اسید در پروتیین EXO1 شده و با تغییر الگوی بیان و همچنین کاهش ظرفیت تعمیر ژن EXO1 موجب بروز سرطان ریه گردد.^{۲۲} در مطالعه حاضر ارتباط میان پلی‌مورفیسم rs1047840 ژن EXO1 با خطر ابتلا به سرطان ریه در جمعیت ایرانی با استفاده از تکنیک PCR-RFLP مورد بررسی قرار گرفت. نتایج حاصل مشخص کرد که پلی‌مورفیسم rs1047840 ژن EXO1 ارتباط معناداری با خطر ابتلا به سرطان ریه دارد. بررسی نتایج حاصل از مقایسه فراوانی‌های ژنوتیپ‌های پلی‌مورفیسم rs1047840 در دو گروه کنترل و بیمار نشان داد که ژنوتیپ AA پلی‌مورفیسم مذکور با خطر ابتلا به سرطان ریه ارتباط معناداری دارد. بررسی نتایج حاصل از مقایسه فراوانی آلی پلی‌مورفیسم rs1047840 در دو گروه کنترل و بیمار نشان داد که آل A پلی‌مورفیسم مذکور با خطر ابتلا به سرطان ریه ارتباط داشته و افرادی که حامل این آل هستند، در معرض خطر ابتلا بیشتری قرار دارند. نتایج حاصل از بررسی ارتباط پلی‌مورفیسم rs1047840 ژن

EXO1 با خطر ابتلا به سرطان ریه در مطالعه ما با دیگر مطالعات صورت گرفته در جمعیت‌های مختلف همخوانی دارد.^{۲۱، ۲۳} مطالعات متعددی در مورد پلی‌مورفیسم rs1047840 با خطر ابتلا به سرطان‌های مختلف از جمله سرطان ریه صورت گرفته است. در مطالعه‌ی که توسط Jin و همکاران در کشور چین بر روی بیماران مبتلا به سرطان ریه و افراد سالم صورت گرفت، پلی‌مورفیسم‌های ژن EXO1 مورد بررسی قرار گرفتند که در این میان ژنوتیپ AA و آل A پلی‌مورفیسم rs1047840 ژن مذکور ارتباط معناداری با خطر ابتلا به سرطان ریه نشان داد.^{۲۱} به‌گونه‌ای که با نتایج حاصل در مطالعه حاضر سازگاری دارد. در متآنالیز صورت گرفته مطالعه توسط Tang و همکاران متشکل از ۱۹ مطالعه، مشخص شد که آل A پلی‌مورفیسم rs1047840 و ارتباط معناداری با خطر ابتلا به سرطان ریه داشته به گونه‌ای که می‌توان از این پلی‌مورفیسم به‌عنوان بیومارکر در مطالعات پیش‌گویی بالینی و تشخیص زودرس در ارتباط با خطر ابتلا به سرطان ریه استفاده نمود.^{۲۶} در دیگر مطالعه‌ی متآنالیزی که توسط Duan و همکاران در سال ۲۰۱۴ صورت گرفت مشخص شد که پلی‌مورفیسم rs1047840 با خطر ابتلا به سرطان ریه ارتباط معناداری

گره‌های لنگوای و وضعیت متاستاز وجود نداشت. اختلاف نتایج به‌دست آمده در مطالعه ما با دیگر مطالعات می‌تواند به دلیل متفاوت بودن فرکانس پلی‌مورفیسم مورد مطالعه، متفاوت بودن شرایط محیطی و فاکتورهای خطر سرطان ریه باشد. پیشنهاد می‌شود که بیان ژن مذکور در حضور یا عدم حضور پلی‌مورفیسم مذکور مطالعه گردد تا نتایج شفاف‌تری در مورد تاثیر وجود پلی‌مورفیسم بر روی بیان ژن مذکور و بروز سرطان ریه فراهم گردد. به‌علاوه انجام مطالعه مذکور در جامعه آماری بزرگتر، متشکل از قومیت‌های مختلف ایرانی می‌تواند نتایج دقیق‌تری در مورد اهمیت پلی‌مورفیسم مذکور به‌عنوان یک مارکر پیش‌آگهی دهنده در اختیار قرار دهد.

نتیجه‌گیری، در این مطالعه‌ی موردی-شاهدی که بر روی ۱۰۰ فرد مبتلا به سرطان ریه و ۱۰۰ فرد سالم صورت گرفت، ارتباط معناداری میان ژنوتیپ AA و آلل A پلی‌مورفیسم rs1047840 ژن EXO1 با خطر ابتلا به سرطان ریه مشاهده گردید به گونه‌ای که این پلی‌مورفیسم می‌تواند به‌عنوان یک بیومارکر در ارتباط با پیش‌آگاهی بالینی به‌منظور تشخیص زود رس سرطان ریه مورد استفاده قرار گیرد، هرچند مطالعات بیشتری با جامعه آماری بالا در جمعیت‌های مختلف کشور مورد نیاز است.

سپاسگزاری:

این پژوهش بخشی از طرح تحقیقاتی با عنوان " بررسی ارتباط پلی‌مورفیسم‌های ژن‌های EGFR و EXO1 با خطر ابتلا به سرطان ریه در جمعیت ایرانی " در سال ۱۳۹۹ و کد طرح ۳۴۶۵ است که با حمایت دانشگاه علوم پزشکی اراک و پرسنل بیمارستان آیت‌الله خوانساری شهر اراک اجرا شده است.

References

1. Pezeshki M, Ansari J, Esfandiyari M, Tamjidi E, Ahmadi A, Komijani D. Investigating the Importance of the Role of Key Genes in the Diagnosis and Treatment of Lung Cancer: A Review Article. *Paramedical Sciences and Military Health* 2023;18(1):61-77.
2. Pezeshki M, Hosseini SM, Ansari J, Ahmadi A. Investigating the importance of EGFR (- 216G/T), Exo1 (K589E) and LEP (- 2548G/A) gene polymorphisms with risk of lung cancer as potential diagnostic biomarker in Iranian population. *Egyptian Journal of Medical Human Genetics* 2023;24(1):55.
3. Pezeshki M, Ansari J, Ahmadi A. Investigating the association between-216G/T polymorphism of EGFR gene with lung cancer as a predictive marker in Iranian population. *Jundishapur Scientific Medical Journal* 2023;22(4).
4. Mustafa M, Azizi AJ, Iliam E, Nazirah A, Sharifa S, Abbas S. Lung cancer: risk factors, management, and prognosis. *IOSR Journal of Dental and Medical Sciences*. 2016 Oct;15(10):94-101.
5. Zou S, Pan X, Hua C, Wu M, He B, Chen Z. Myeloperoxidase-463 G/A polymorphism is associated with lung cancer risk: A meta-analysis with 7420 cases and 9132 controls. *Journal of cancer research and therapeutics* 2018;14(9):282.
6. Cheng TY, Cramb SM, Baade PD, Youlten DR, Nwogu C, Reid ME. The international epidemiology of lung cancer: latest trends, disparities, and tumor characteristics. *Journal of Thoracic Oncology* 2016;11(10):1653-71.
7. Dai X, Deng S, Wang T, Qiu G, Li J, Yang B, Feng W, He X, Deng Q, Ye J, Zhang W. Associations between 25 Lung Cancer

دارد.^{۲۷} به گونه‌ای که با نتایج به‌دست آمده در مطالعه ما در ارتباط است. مطالعات دیگری در مورد ارتباط پلی‌مورفیسم rs1047840 ژن EXO1 با سرطان‌های دیگر صورت گرفته است. به‌عنوان مثال در مطالعه صورت گرفته توسط ناصری‌نژاد و همکاران مشخص شد که ارتباط معناداری میان پلی‌مورفیسم rs1047840 ژن EXO1 با خطر ابتلا به سرطان کلورکتال وجود دارد به گونه‌ای که این پلی‌مورفیسم می‌تواند خطر ابتلا به این سرطان را تحت تاثیر خود قرار دهد.^{۱۷} در دیگر مطالعه صورت گرفته توسط Bau و همکاران در کشور تایوان ارتباط میان پلی‌مورفیسم rs1047840 ژن EXO1 در یک مطالعه موردی-شاهدی با خطر ابتلا به سرطان معده به وسیله تکنیک PCR-RFLP مورد مطالعه قرار گرفت که در نتیجه این مطالعه ارتباط معناداری میان پلی‌مورفیسم rs1047840 با خطر ابتلا به سرطان معده مشاهده گردید. به گونه‌ای که آلل A با خطر ابتلا به سرطان معده در ارتباط بود.^{۳۳} مطالعات صورت گرفته مختلفی نیز ارتباط پلی‌مورفیسم rs1047840 ژن EXO1 را با خطر ابتلا به سرطان‌های مختلف از جمله کلورکتال، معده، دهان و پستان گزارش داده‌اند.^{۱۷، ۲۸ و ۲۹} نتایج به‌دست آمده در مطالعه حاضر و همچنین سازگاری این نتایج حاصل با دیگر مطالعات نشان می‌دهد که وجود آلل A و ژنوتیپ AA پلی‌مورفیسم rs1047840 در ژن EXO1 موجب کاهش ظرفیت تعمیری پروتیین تولید شده می‌گردد به گونه‌ای که با خطر بروز سرطان ریه و سایر سرطان‌ها در ارتباط می‌باشد. بررسی ارتباط ژنوتیپ‌های پلی‌مورفیسم rs1047840 ژن EXO1 با سیستم مرحله‌بندی TNM می‌تواند منعکس‌کننده خصوصیات توموری هر ژنوتیپ خاص باشد این در حالی بود که هیچ‌گونه ارتباط معناداری میان ژنوتیپ‌های پلی‌مورفیسم مذکور با درجه تومور، وضعیت

- Risk-Related SNPs and Polycyclic Aromatic Hydrocarbon Induced Genetic Damage in Coke Oven Workers Lung Cancer Related SNPs and PAH-Induced Genetic Damage. *Cancer epidemiology, biomarkers & prevention* 2014;23(6):986-96.
8. Bashir NA, Ragab ES, Khabour OF, Khassawneh BY, Alfaqih MA, Momani JA. The association between epidermal growth factor receptor (EGFR) gene polymorphisms and lung cancer risk. *Biomolecules* 2018;8(3):53.
 9. Dehghani M, Samani Z, Abidi H, Manzouri L, Mahmoudi R, Hosseini Teshnizi S, Nikseresht M. Relationship of SNP rs26454-29 in farnesyl-diphosphate farnesyltransferase 1 gene promoter with susceptibility to lung cancer. *International Journal of Genomics* 2018;2018.
 10. Khazaei S, Mansori K, Soheylizad M, Gholamaliee B, Khosravi Shadmani F, Khazaei Z, Ayubi E. Epidemiology of lung cancer in Iran: sex difference and geographical distribution. *Middle East Journal of Cancer* 2017;8(4):223-8.
 11. Vardanjani HM, Zeinali M, Radmerikhi S, Hadipour M. Lung cancer prevalence in Iran by histologic subtypes. *Advanced biomedical research* 2017;6.
 12. Byun J, Schwartz AG, Lusk C, Wenzlaff AS, De Andrade M, Mandal D, Gaba C, Yang P, You M, Kupert EY, Anderson MW. Genome-wide association study of familial lung cancer. *Carcinogenesis* 2018;39(9):1135-40.
 13. Choi H, Mazzone P. Radon and lung cancer: assessing and mitigating the risk. *Cleve Clin J Med* 2014;81(9):567-75.
 14. Alberg AJ, Brock MV, Ford JG, Samet JM, Spivack SD. Epidemiology of lung cancer: Diagnosis and management of lung cancer: American College of Chest Physicians evidence-based clinical practice guidelines. *Chest* 2013;143(5):e1S-29S.
 15. Iyer RR, Pluciennik A, Burdett V, Modrich PL. DNA mismatch repair: functions and mechanisms. *Chemical reviews* 2006;106(2):302-23.
 16. Dogan M, Demirkazik A, Tukun A, CEYHAN K, YALCIN B, AKBULUT H, Fikri IC. The relationship between common EGFR, BRAF, KRAS mutations and prognosis in advanced stage non-small cell lung cancer with response to the treatment in Turkey. *International Journal of Hematology and Oncology* 2014;32(3):001-10.
 17. Nasserinejad M, Pourhoseingholi MA, Rezasoltani S, Akbari S, Baghestani AR, Shojaee S, Yaghoob-Taleghani M, Nazemalhosseini-Mojarad E. Single-nucleotide polymorphism of Exo1 gene is associated with risk of colorectal cancer based on Robust Bayesian approach. *Gastroenterology and Hepatology from Bed to Bench* 2018;11(Suppl 1):S146.
 18. Jiricny J. The multifaceted mismatch-repair system. *Nature reviews Molecular cell biology* 2006;7(5):335-46.
 19. Bayram S, Akkız H, Bekar A, Akgöllü E, Yıldırım S. The significance of exonuclease 1 K589E polymorphism on hepatocellular carcinoma susceptibility in the Turkish population: a case-control study. *Molecular biology reports* 2012 May;39:5943-51.
 20. Lin E, Kuo PH, Liu YL, Yang AC, Tsai SJ. Polymorphisms of the DNA repair gene EXO1 modulate cognitive aging in old adults in a Taiwanese population. *DNA repair* 2019;78:1-6.
 21. Jin G, Wang H, Hu Z, Liu H, Sun W, Ma H, Chen D, Miao R, Tian T, Jin L, Wei Q. Potentially functional polymorphisms of EXO1 and risk of lung cancer in a Chinese population: A case-control analysis. *Lung cancer* 2008;60(3):340-6.
 22. Zhang M, Zhao D, Yan C, Zhang L, Liang C. Associations between nine polymorphisms in EXO1 and cancer susceptibility: a systematic review and meta-analysis of 39 case-control studies. *Scientific reports* 2016;6(1):1-0.
 23. Bau DT, Wang HC, Liu CS, Chang CL, Chiang SY, Wang RF, Tsai CW, Lo YL, Hsiung CA, Lin CC, Huang CY. Single-nucleotide polymorphism of the Exo1 gene: association with gastric cancer susceptibility and interaction with smoking in Taiwan. *Chin Journal of Physiology* 2009;52(6):411-8.
 24. Zienolddiny S, Campa D, Lind H, Ryberg D, Skaug V, Stangeland L, Phillips DH, Canzian F, Haugen A. Polymorphisms of DNA repair genes and risk of non-small cell lung cancer. *Carcinogenesis* 2006;27(3):560-7.
 25. Chang JS, Yeh RF, Wiencke JK, Wiemels JL, Smirnov I, Pico AR, Tihan T, Patoka J, Miike R, Sison JD, Rice T. Pathway analysis of single-nucleotide polymorphisms potentially associated with glioblastoma multiforme susceptibility using random forests. *Cancer Epidemiology Biomarkers & Prevention* 2008;17(6):1368-73.
 26. Tang J, Tang S, Liu J, Wu Q, Wan L, Xu Q. Genetic risk of lung cancer associated with a single nucleotide polymorphism from EXO1: a meta-analysis. *International journal of clinical and experimental medicine* 2015;8(7):11132.
 27. Duan F, Song C, Dai L, Cui S, Zhang X, Zhao X. The significance of Exo1 K589E polymorphism on cancer susceptibility: evidence based on a meta-analysis. *Plos one* 2014;9(5):e96764.
 28. Tsai MH, Tseng HC, Liu CS, Chang CL, Tsai CW, Tsou YA, Wang RF, Lin CC, Wang HC, Chiu CF, Bau DT. Interaction of Exo1 genotypes and smoking habit in oral cancer in Taiwan. *Oral oncology* 2009;45(9):e90-4.
 29. Wang HC, Chiu CF, Tsai RY, Kuo YS, Chen HS, Wang RF, Tsai CW, Chang CH, Lin CC, Bau DT. Association of genetic polymorphisms of EXO1 gene with risk of breast cancer in Taiwan. *Anticancer research* 2009;29(10):3897-901.

Investigating the association between K589E polymorphism of EXO1 gene with the susceptibility lung malignancy as a prognostic marker in the Iranian population

Abstract

Received: 11 Oct. 2023 Revised: 17 Oct. 2023 Accepted: 11 Nov. 2023 Available online: 22 Nov. 2023

Jamshid Ansari M.D.^{1*}
Milad Pezeshki M.Sc.²
Azam Ahmadi Ph.D.²
Ali Chehrei M.D.³

1- Department of Radio Oncology,
Ayatollah Khansari Hospital, Arak
University of Medical Sciences,
Arak, Iran.

2- Infectious Diseases Research
Center, School of Medicine, Arak
University of Medical Sciences,
Arak, Iran.

3- Department of Pathology, School
of Medicine, Arak University of
Medical Sciences, Arak, Iran.

* Corresponding Department of
Radiotherapy, Ayatollah Khansari
Hospital, Daneshgah St., Arak, Iran
Tel: +98-8633675001
E-mail: Jamshidsa@yahoo.com

Background: Lung cancer has the highest incidence and mortality rate of all cancers worldwide. In Iran, it is one of the commonly diagnosed malignancies, and its frequency is increasing rapidly. Genetic variants in DNA repair genes are linked to differences in efficiency of repairing DNA damage, which can influence lung cancer susceptibility. EXO1 is a key gene involved in the mismatch repair pathway. The K589E polymorphism in EXO1 may alter the DNA repair activity of the encoded protein and impact lung cancer risk. The aim of this study was to investigate associations between the K589E polymorphism in EXO1 and lung cancer risk in the Iranian population, and evaluate its potential as a prognostic biomarker.

Methods: This case-control study was conducted to investigate EXO1 K589E variant with susceptibility to lung malignancy in the Iranian population. One hundred patients with lung cancer as a patient group and 100 healthy individuals from Khansari Hospital located in Markazi province were studied, from January 2020 to May 2022. DNA extraction from blood samples of participants was done using a kit. Genotype determination of both patient and control groups was done using PCR-RFLP technique. Finally, statistical results were analyzed using SPSS software and the logistic regression method.

Results: Genotype and allele frequency analysis showed the AA genotype ($P=0.004$, $OR=5.391$, 95% CI: 1.690-17.200) and A allele ($P=0.010$, $OR=2.851$, 95% CI: 1.291-6.300) were correlated with susceptibility to lung cancer. On the other hand, people carrying the G variant allele had a lower risk of lung cancer.

Conclusion: In summary, this study found the AA genotype and A allele of K589E in EXO1 are correlated with risk of lung cancer in Iranians, while the G allele has protective effects. The K589E polymorphism may serve as a prognostic biomarker for lung cancer susceptibility, but more studies with high population size are required.

Keywords: Exonuclease, Lung cancer, Polymerase chain reaction, Single nucleotide polymorphism.

