

Association between ICB-1 Gene Polymorphism rs1467465 (A>G) and Thyroid Cancer Susceptibility

M. Alizadeh (MSc)¹ , N. Pouladi (PhD)^{*1} , M. A. Hoseinpour Feizi (PhD)² ,
R. Madadi Rad (MSc)¹ , S. Emami (MSc)² 

1.Department of Cellular and Molecular Biology, Faculty of Basic Sciences, Azarbaijan Shahid Madani University, Tabriz, I.R.Iran.

2.Department of Animal Biology, Faculty of Natural Sciences, University of Tabriz, Tabriz, I.R.Iran.

Article Type ABSTRACT

Research Paper

Background and Objective: Studies indicate that single nucleotide polymorphism of ICB-1 gene rs1467465 is associated with breast cancer and ovarian cancer. This study was conducted with the aim of investigating the association between ICB-1 gene polymorphism rs1467465 (A>G) and thyroid cancer susceptibility.

Methods: In this case-control study, the peripheral blood of 92 thyroid cancer patients referred to Tabriz hospitals and 203 healthy individuals were prepared. After DNA extraction by saturated salt solution, single nucleotide polymorphism rs1467465 of ICB-1 gene was investigated by TETRA-ARMS-PCR method. Then, allelic and genotypic frequencies of patient and control groups were evaluated and compared.

Findings: In this study, the genotypic frequency of AA, AG and GG in the patient group was 4.34%, 68.47% and 27.17%, respectively, and in the control group was 4.92%, 55.66% and 39.40% respectively. The frequencies of A and G alleles were calculated as 38.58% and 61.41% in the patient group and 32.75% and 67.24% in the control group, respectively. In this study, the relationship between this polymorphism and some clinical and pathological characteristics of thyroid cancer, including gender, age, type, grade and size of tumor, involvement of lymph nodes and involved side, was investigated.

Conclusion: This study showed that AG and GG genotypes have a significant relationship with the risk of developing thyroid tumors in the studied population, and this polymorphism may contribute to determining the relative risk of developing thyroid tumors.

Keywords: *Thyroid Cancer, ICB-1 Gene, Polymerase Chain Reaction.*

Received:

May 1st 2021

Revised:

Sep 14th 2021

Accepted:

Feb 4th 2022

Cite this article: Alizadeh M, Pouladi N, Hoseinpour Feizi MA, Madadi Rad R, Emami S. Association between ICB-1 Gene Polymorphism rs1467465 (A>G) and Thyroid Cancer Susceptibility. *Journal of Babol University of Medical Sciences*. 2022; 24(1): 463-71.



© The Author(S).

Publisher: Babol University of Medical Sciences

*Corresponding Author: N. Pouladi (PhD)

Address: Department of Cellular and Molecular Biology, Faculty of Basic Sciences, Azarbaijan Shahid Madani University, Tabriz, I.R.Iran.

Tel: +98 (41) 31452103. E-mail: Srna52@gmail.com

همراهی پلی مورفیسم ژن rs1467465 A>G ICB-1 در استعداد ابتلا به سرطان تیروئید

مریم عزیزاده (MSc)^۱، ناصر پولادی (PhD)^{۱*}، محمدعلی حسینیپور فیضی (PhD)^۲،
رعنا مددی راد (MSc)^۱، سعیده امامی (MSc)^۲

۱. گروه زیست شناسی سلولی و مولکولی، دانشکده علوم پایه، دانشگاه شهید مدنی آذربایجان، تبریز، ایران

۲. گروه زیست شناسی جانوری، دانشکده علوم طبیعی، دانشگاه تبریز، تبریز، ایران

نوع مقاله	چکیده
مقاله پژوهشی	سابقه و هدف: مطالعات حاکی از آن است که پلی مورفیسم تک نوکلئوتیدی rs1467465 ژن ICB-1 در سرطان های سینه و تخمدان همراهی دارد. این مطالعه با هدف بررسی همراهی پلی مورفیسم ژن rs1467465 A>G ICB-1 در استعداد ابتلا به سرطان تیروئید انجام گرفت. مواد و روش ها: در این مطالعه موردی- شاهدی خون محیطی ۹۲ بیمار مبتلا به سرطان تیروئید مراجعه کننده به بیمارستان های تبریز و ۲۰۳ فرد سالم تهیه شد. پس از استخراج DNA به روش نمک اشباع، پلی مورفیسم تک نوکلئوتیدی rs1467465 ژن ICB-1 به روش TETRA-ARMS-PCR مورد بررسی قرار گرفت. سپس فراوانی آللی و ژنوتیپی گروه بیمار و کنترل ارزیابی و مقایسه گردید. یافته ها: در این مطالعه، فراوانی ژنوتیپی AA، AG و GG در گروه بیمار به ترتیب ۴/۳۴٪، ۶۸/۴۷٪ و ۲۷/۱۷٪ و در گروه کنترل، ۴/۹۲٪، ۵۵/۶۶٪ و ۳۹/۴۰٪ به دست آمد. فراوانی آللی A و G به ترتیب در گروه بیمار، ۳۸/۵۸٪ و ۶۱/۴۱٪ و در گروه کنترل، ۳۲/۷۵٪ و ۶۷/۲۴٪ محاسبه شد. در این مطالعه، ارتباط این پلی مورفیسم با برخی از خصوصیات بالینی و آسیب شناختی سرطان تیروئید شامل جنسیت، سن، نوع، درجه و اندازه تومور، درگیری غدد لنفی و سمت درگیر بررسی شد. نتیجه گیری: مطالعه نشان داد که ژنوتیپ های AG و GG دارای ارتباط معنی داری با ریسک ابتلا به تومورهای تیروئیدی در جمعیت مورد مطالعه هستند و همچنین این پلی مورفیسم ممکن است در تعیین خطر نسبی گسترش تومورهای تیروئیدی سهیم باشد. واژه های کلیدی: سرطان تیروئید، ژن ICB-1، واکنش زنجیره ای پلیمرز.

استناد: مریم عزیزاده، ناصر پولادی، محمدعلی حسینیپور فیضی، رعنا مددی راد، سعیده امامی. همراهی پلی مورفیسم ژن rs1467465 A>G ICB-1 در استعداد ابتلا به سرطان تیروئید. مجله علمی دانشگاه علوم پزشکی بابل، ۱۴۰۱؛ ۲۴(۱): ۷۱-۴۶۳.



© The Author(S).

Publisher: Babol University of Medical Sciences

این مقاله مستخرج از پایان نامه مریم عزیزاده دانشجوی کارشناسی ارشد رشته زیست شناسی سلولی و مولکولی دانشگاه شهید مدنی آذربایجان می باشد.

* مسئول مقاله: دکتر ناصر پولادی

رایانامه: Srna52@gmail.com

آدرس: تبریز، دانشگاه شهید مدنی آذربایجان، دانشکده علوم پایه، گروه زیست شناسی سلولی و مولکولی. تلفن: ۰۴۱-۳۱۴۵۲۱۰۳

مقدمه

سرطان تیروئید شایع‌ترین بدخیمی سیستم غدد درون‌ریز است که شیوع آن به طور مداوم افزایش می‌یابد. اصطلاح سرطان تیروئید شامل طیفی از انواع مختلف به نام‌های سرطان پاپیلاری تیروئید، سرطان فولیکولار تیروئید، سرطان آناپلاستیک تیروئید و سرطان مدولاری تیروئید است (۱). ژن انسانی *ICB-1* که به نام‌های THEMIS-2 (Thymocyte Selection Associated Family Member 2) و C1orf38 نیز خوانده می‌شود، در موقعیت 1p35.3 واقع شده است که در یک پروژه آنالیز تغییرات بیان ژن در طول تمایز *in vitro* سلول‌های توموری اندومتریال معرفی و کلون شد (۲). مطالعات اخیر نشان داد که *ICB-1* به عنوان سرکوب‌کننده تومور در سرطان تخمدان عمل می‌کند (۳). در مطالعه ای میانگنشی بین $ER\alpha$ (Estrogen Receptor α) و ژن *ICB-1* در سلول‌های سرطان سینه گزارش شده است. همچنین یک عنصر پاسخ دهنده به استروژن ERE (Estrogen Response Element) در پروموتور این ژن شناسایی شده است که بیان القا شده با استروژن را در سلول‌های سرطانی سینه و تخمدان ثابت کرده است (۴). خاموشی پایدار *ICB-1* در سلول‌های سرطانی سینه و تخمدان، پاسخ سلولی استروژن را به لحاظ تکثیر و بیان ژن افزایش داد و این نشان می‌دهد که *ICB-1* ممکن است یک رفتار آنتاگونیستی بر روی پاسخ سلولی استروژن اعمال کند (۵). بنابراین سطح فردی بیان *ICB-1* و انواع پیرایش‌های (Splicings) آن، که ممکن است نتیجه عوامل اپی‌ژنتیکی مختلف باشد، بعلاوه عوامل ژنتیکی می‌تواند بر شدت بیان $ER\alpha$ تأثیر بگذارد و هر دو پاسخ به استروژن و خطر سرطان سینه را تحت تأثیر قرار دهد (۶). یکی از موارد مورد تحقیق در تعیین پیش‌آگهی سرطان تیروئید، بررسی پلی‌مورفیسم‌های تک نوکلئوتیدی است که می‌تواند به یافتن راه‌های درمانی جدید و پیش‌آگهی کمک کند. rs1467465 (A>G) یک پلی‌مورفیسم اینترونی بوده و بین اگزون ۴ و ۵ ژن *ICB-1* قرار دارد (۷). همراهی این پلی‌مورفیسم با استعداد ابتلا به دو نوع از سرطان‌های سینه و تخمدان به ترتیب توسط Springwald و همکاران و Schüller و همکاران در جمعیت زنان قفقازی گزارش شده است (۶، ۷). هدف از انجام این پژوهش، مقایسه فراوانی‌های آللی و ژنوتیپی پلی‌مورفیسم ژن *ICB-1* rs1467465 در دو گروه شاهد و بیمار برای بررسی احتمال همراهی بین استعداد ابتلا به سرطان تیروئید و این پلی‌مورفیسم در استان آذربایجان شرقی می‌باشد.

مواد و روش‌ها

این مطالعه مورد-شاهدی پس از تصویب در کمیته اخلاق دانشگاه علوم پزشکی تبریز با کد IR.TBZMED.REC.1399.1162 بر روی ۹۲ فرد مبتلا به سرطان تیروئید از جمعیت استان آذربایجان شرقی مراجعه‌کننده به بیمارستان نور نجات و امام رضا (ع) تبریز و ۲۰۳ نمونه کنترل که هیچ‌گونه سابقه بیماری و ابتلا به سرطان تیروئید در آنها و اقوام درجه یک و دو آنها وجود نداشت پس از اخذ رضایت‌نامه کتبی انجام شد. تشخیص نوع و درجه بندی تومور توسط پاتولوژیست صورت گرفت.

استخراج DNA ژنومی از خون محیطی: در این پژوهش ۴ سی‌سی خون محیطی از بیماران دریافت و به لوله‌های آزمایش حاوی ماده ضد انعقاد خون (EDTA) منتقل شد. سپس استخراج DNA به روش نمک اشباع (Salting out) انجام گردید (۸). DNA استخراج شده هم از نظر کیفی و هم از نظر کمی به روش الکتروفورز بر روی ژل آگارز ۱٪ در آزمایشگاه رادیوبیولوژی دانشکده علوم طبیعی دانشگاه تبریز مورد بررسی قرار گرفت.

تکنیک واکنش زنجیره‌ای پلیمرز: در این پژوهش برای بررسی پلی‌مورفیسم‌های A>G از تکنیک Tetra primer-(TETRA-ARMS-PCR) استفاده گردید. پرایمرها بر اساس مطالعات قبلی (برای پلی‌مورفیسم تک نوکلئوتیدی rs1467465) سنتز شدند (۷). پرایمرهای رفت و برگشت بیرونی با طول محصول ۵۱۱ bp که به ترتیب دارای توالی 5'-CGACAGACCTTAGCCCCGTGT-3' و 5'-GGAGACAGGGTGTTCCTGG-3' بودند و پرایمر رفت درونی با طول محصول ۱۹۸ bp دارای توالی 3'-CGTCATGTAGCATCTGGCACA-5' و پرایمر برگشت درونی با طول محصول ۳۵۶ bp دارای توالی 5'-GGACTTCCATTGCGTTCCCCAAC-3' مورد استفاده قرار گرفتند. PCR در حجم کل ۱۰ میکرولیتر، حاوی ۱ میکرولیتر DNA ژنومی، ۰/۳ میکرولیتر از هر چهار پرایمر با غلظت ۱۰ Mm (ساخت شرکت ژن فن آوران ایران)، ۲/۸ میکرولیتر آب مقطر و ۵ میکرولیتر PCR مسترمیکس (Taq DNA Polymerase Mix Red-Mgcl2 1.5 mM/ 2 mM) (ساخت شرکت AMPLIQON ایران) در ترموسایکلر (ساخت شرکت Techne Biometra انگلستان-آلمان) انجام گردید. برنامه PCR به مدت ۵ دقیقه در ۹۵ درجه سانتی‌گراد و به دنبال آن ۳۳ چرخه PCR با ۹۵ درجه سانتی‌گراد (۳۰ ثانیه)، ۶۲ درجه سانتی‌گراد (۳۵ ثانیه) و ۷۲ درجه سانتی‌گراد (۱ دقیقه) و به دنبال آن گسترش نهایی برای یک مرحله ۱۰ دقیقه ای در ۷۲ درجه

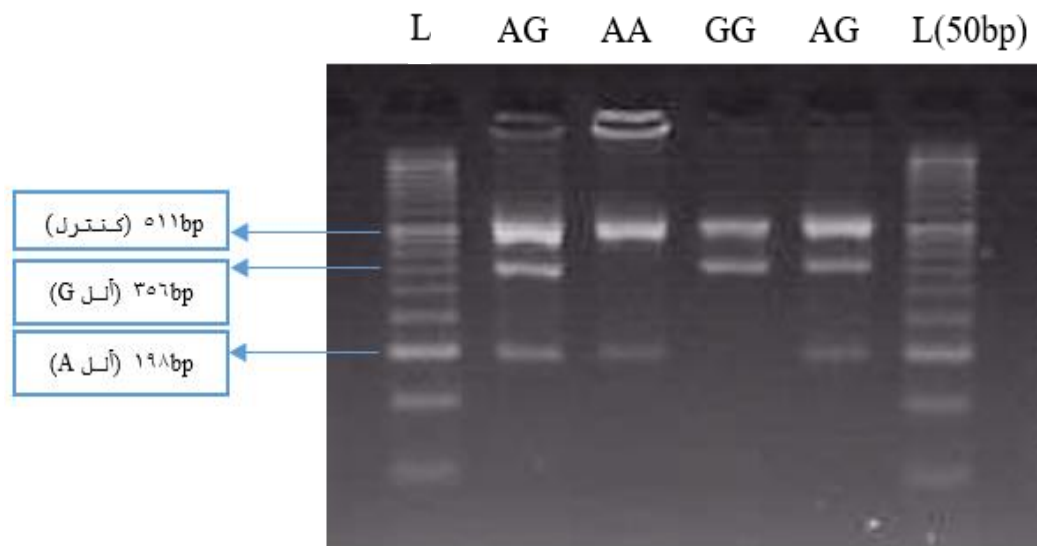
سانتی گراد انجام شد. در نهایت نتایج حاصل از تکنیک TETRA-ARMS-PCR بر روی ژل آگارز (پودر آگارز LE شرکت SinaClon ایران) ۳٪ مشاهده شد.

ارتباط بین ژنوتیپ ها و آلل ها بین گروه شاهد و بیمار با استفاده از آزمون مربع کای پیرسون و در مواردی که تعداد داده های مشاهده شده کمتر از ۵ بود از آزمون دقیق فیشر با نسبت شانس (OR) و ضریب اطمینان (CI) ۹۵٪ محاسبه گردید. برای محاسبه آزمون های آماری اشاره شده برای ژنوتیپ ها و آلل ها از برنامه javastat online statistics package (www.statpages.info/ctab2x2.html) و برای بررسی ارتباط بین ژنوتیپ ها و مشخصات بالینی بیماران و همین طور شاخص میانگین از نرم افزار SPSS نسخه ۲۵ استفاده شد و $p < 0.05$ معنی دار در نظر گرفته شد.

آنالیز Insilico: آنالیز Insilico این مطالعه با استفاده از وب سایت و نرم افزارهای آنالیز نظیر HaploReg، rSNPBase، RNAsp، Splice Aid 2 و Alibaba انجام گردید. برای مشخص کردن حضور جایگاه های اتصال دهنده فاکتور رونویسی فرضی در پلی مورفیسم از وب سایت Alibaba نسخه ۲/۱ استفاده شد. تعیین تمایل فاکتورهای رونویسی و پروتئین ها برای پلی مورفیسم مورد نظر با استفاده از وب سایت HaploReg نسخه ۴/۱ انجام شد. rSNPBase برای تعیین نقش تنظیمی نزدیک و دور پلی مورفیسم مورد استفاده قرار گرفت. از RNAsp که تأثیر پلی مورفیسم بر ساختار دوم RNA را مشخص می کند، استفاده گردید و در نهایت از Splice Aid 2 استفاده شد که در واقع اطلاعات مربوط به عوامل مختلفی که طی فرآیند پیرایش به توالی pre-mRNA متصل می شوند و با تعامل رونوشت های بالغ را به وجود می آورند، فراهم می کند.

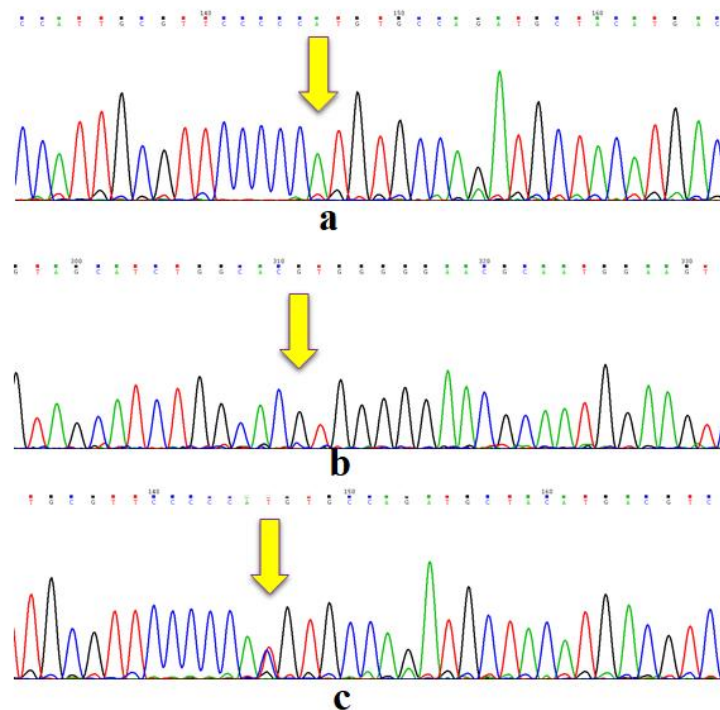
یافته ها

محصولات تکثیر حاصل از PCR به وسیله الکتروفورز بر روی ژل آگارز ۳٪ مشاهده شد. ژنوتیپ ها از چپ به راست به ترتیب AG، AA و GG می باشند. با تکثیر توالی هدف از ژن ICB-1 توسط پرایمرهای سنتز شده، سه محصول مورد انتظار شامل قطعه ۵۱۱ جفت بازی برای باند کنترل، قطعه ۳۵۶ جفت بازی برای آلل G و قطعه ۱۹۸ جفت بازی برای آلل A حاصل شد (شکل ۱).



شکل ۱. الکتروفورز تعدادی از محصولات PCR. افراد بیمار و مارکر ۵۰ جفت بازی بر روی ژل آگارز ۳٪.

نتایج توالی یابی: به منظور تأیید ژنوتیپ های به دست آمده با روش TETRA-ARMS-PCR، چندین نمونه برای تعیین توالی به روش سنگر، به شرکت توپاز ژن کاوش ارسال گردید و نتایج حاصل از طریق سایت www.ncbi.nlm.gov/blast با توالی اصلی مقایسه شد. نتایج توالی یابی به روش سنگر در شکل ۲ آورده شده است.



شکل ۲. نتایج توالی یابی به روش سنگر برای ژنوتیپ های (a) AA، (b) GG و (c) AG

فراوانی ژنوتیپ و آلل: مطالعه نشان داد بیشترین فراوانی مربوط به ژنوتیپ AG بود که در ۵۵/۶۶٪ از افراد سالم و ۶۸/۴۷٪ از افراد بیمار مشاهده شد. ژنوتیپ GG در ۳۹/۴۰٪ از افراد سالم و ۲۷/۱۷٪ از افراد بیمار دیده شد و در نهایت ۴/۹۲٪ افراد سالم و ۴/۳۴٪ افراد بیمار ژنوتیپ AA را نشان دادند. با به دست آمدن $p < 0.05$ برای ژنوتیپ های AG ($p = 0.038$) و GG ($p = 0.042$) چنین می توان نتیجه گرفت که ارتباط معنی داری برای این ژنوتیپ ها در بین افراد سالم و بیمار وجود دارد (جدول ۱). بیشترین فراوانی آللی مربوط به آلل G بود که در افراد سالم ۶۷/۲۴٪ و در افراد بیمار ۶۱/۴۱٪ مشاهده شد و فراوانی آلل A در افراد سالم و بیمار به ترتیب ۳۲/۷۵٪ و ۳۸/۵۸٪ بود؛ تفاوت معنی داری در فراوانی آلل A و G برای پلی مورفیسم تک نوکلئوتیدی rs1467465 بین گروه کنترل و بیمار مشاهده نشد (جدول ۱).

جدول ۱. توزیع فراوانی ژنوتیپ و آلل در افراد سالم و بیمار

ژنوتیپ/آلل	بیمار (n=۹۲) تعداد(درصد)	سالم (n=۲۰۳) تعداد(درصد)	p-value (Chi-square)	p-value (Fisher)	OR (95% CI)
AA	۴(۴/۳۴)	۱۰(۴/۹۳)	۰/۸۲۹	۱/۰۰۰	۰/۸۷۷ (۰/۲۶۸-۲/۸۷۴)
AG	۶۳(۶۸/۴۷)	۱۱۳(۵۵/۶۶)	۰/۰۳۸	۰/۰۴۱	۱/۷۳۰ (۱/۰۲۹-۲/۹۱۰)
GG	۲۵(۲۷/۱۷)	۸۰(۳۹/۴)	۰/۰۴۲	۰/۰۴۹	۰/۵۷۴ (۰/۳۳۵-۰/۹۸۳)
A	۷۱(۳۸/۵۹)	۱۳۳(۳۲/۷۶)	۰/۱۶۸	۰/۱۹۱	۱/۲۹۰ (۰/۸۹۸-۱/۸۵۲)
G	۱۱۳(۶۱/۴۱)	۲۷۳(۶۷/۲۴)	۰/۱۶۸	۰/۱۹۱	۰/۷۷۵ (۰/۵۴۰-۱/۱۱۴)

OR: Odds Ratio, CI: Confidence Interval

بیماران همچنین از نظر مشخصات بالینی از قبیل جنسیت، سن، نوع تومور، درجه تومور، اندازه تومور، درگیری غدد لنفاوی، سمت درگیر مورد ارزیابی قرار گرفتند. تنها ارتباط معنی داری بین نوع ژنوتیپ ها با ویژگی اندازه تومور ($p = 0.033$) مشاهده شد (جدول ۲).

جدول ۲. ارتباط پلی مورفیسم ژن rs1467465 A>G ICB-1 با ویژگی های بالینی و آسیب شناختی بیماران مبتلا به سرطان تیروئید

ویژگی های بالینی و آسیب شناختی	ژنوتیپ ها			p-value*
	AA	AG	GG	
جنسیت				
زن	۳	۴۴	۲۳	۰/۱۲۵
مرد	۱	۱۹	۲	
سن				
>۳۸	۳	۲۸	۱۲	۰/۵۲۷
≤۳۸	۱	۳۵	۱۳	
نوع تومور				
فولیکولار آدنوما	۱	۱۳	۶	۰/۲۳۳
فولیکولار کارسینوما	۱	۰	۱	
هارتل سل آدنوما	۰	۱	۰	
هارتل سل کارسینوما	۰	۱	۰	
مدولاری کارسینوما	۰	۱	۱	
پاپیلاری کارسینوما	۲	۴۴	۱۴	
درجه تومور				
I	۴	۴۰	۱۲	۰/۷۸۲
II	۰	۳	۲	
III	۰	۵	۳	
IV	۰	۱	۱	
اندازه تومور				
>۲/۵	۰	۱۱	۱۱	۰/۰۲۳
≤۲/۵	۳	۳۳	۷	
درگیری غدد لنفی				
N0	۲	۲۱	۷	۰/۷۷۴
N1	۱	۱۰	۴	
N1a	۰	۶	۵	
N1b	۰	۳	۰	
Nx	۰	۱۰	۴	
سمت درگیر				
راست	۲	۲۵	۷	۰/۹۱۴
چپ	۱	۱۵	۶	
هر دو سمت	۰	۶	۲	

* ۰/۰۵ < p قابل قبول است.

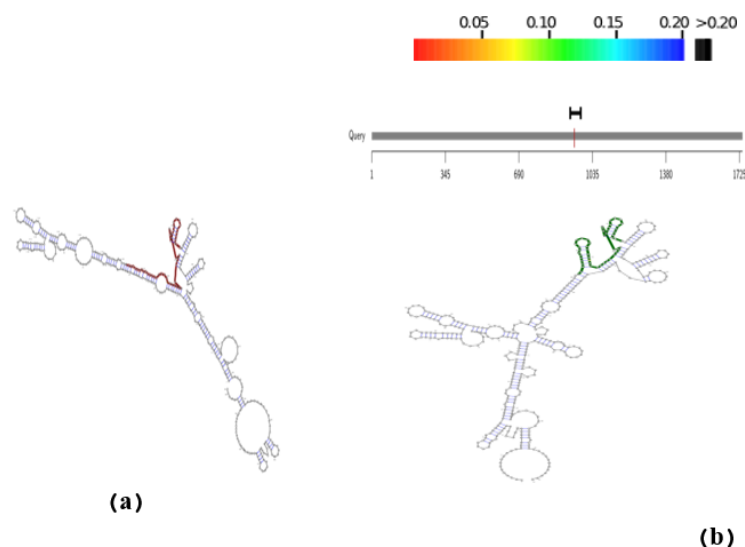
آنالیز Insilico: نتایج این مطالعه با استفاده از نرم افزار Alibaba نشان داد که با تغییر آلل وحشی به آلل موتانت به ترتیب فاکتورهای رونویسی GR، NF-1، USF و SP-1، قابلیت اتصال پیدا می کنند. نتیجه نرم افزار HaploReg که ابزاری برای کشف تفسیرهایی از ژنوم غیر کد کننده در انواع بلوک های هاپلوتایپ مانند: SNP های کاندید تنظیمی در مکان های مرتبط با بیماری است، در شکل ۳ آورده شده است. rSNPBase نیز نشان

داد که پلی مورفیسم مورد نظر ما تنها نقش تنظیمی دور دارد. تغییرات ساختار فضایی ناشی از پلی مورفیسم توسط نرم افزار آنالین RNAsnp بررسی شد و با توجه به اینکه در این آنالیز $p < 0.05$ به عنوان سطح معنی دار در نظر گرفته شده است؛ p -value به دست آمده بیشتر از 0.05 بود و طبق پیش بینی ساختار دوم RNA توسط نرم افزار آنالین RNAsnp تغییری در ساختار دوم RNA ژن *ICB-1* rs1467465 A>G مشاهده نشد ($p = 0.8523$). همچنین بر اساس کمینه انرژی های به دست آمده برای توالی وحشی و موتانت می توان نتیجه گرفت که تغییر قابل ملاحظه ای در پایداری RNA های وحشی و موتانت وجود نداشت (شکل ۴). نتایج حاصل از نرم افزار آنالین 2 Splice Aid نشان داد که هیچ جایگاه اتصالی چه در حضور آل وحشی و چه در حضور آل موتانت برای عوامل مختلفی که به توالی pre-mRNA متصل می شوند، وجود ندارد.

Query SNP: rs1467465 and variants with $r^2 \geq 0.8$

chr	pos (hg38)	LD	LD (*)	variant	Ref	Ait	AFR	AMR	ASN	EUR	sPhy	Promoter histone marks	Enhancer histone marks	DNAse	Proteins bound	Motifs changed	NHGRIEBI GWAS hits	GRASP QTL hits	selected eQTL hits	GENCODE genes	dbSNP func annot
1	27884892	1	1	rs1467465	A	G	0.45	0.75	0.63	0.65		BLD	8 tissues	8 tissues	PU1,USF1,USF2	6 altered motifs		1 hit	5 hits	C1orf38	Intronic

شکل ۳. نتیجه نرم افزار HaploReg: با تبدیل آل A به G در پلی مورفیسم rs1467465، پروتئین های PU1، USF1 و USF2 قابلیت اتصال پیدا می کنند.



شکل ۴. پیش بینی تغییر ساختار دوم RNA توسط نرم افزار آنالین RNAsnp: مقایسه شماتیکی ساختار دوم RNA در حالت وحشی (a) و حالت پلی مورف (b) (Minimum free energy = -116/50 kcal/mol) و (b) (Minimum free energy = -116/60 kcal/mol)

بحث و نتیجه گیری

در این مطالعه ارتباط معنی داری برای ژنوتیپ های AG و GG در بین افراد سالم و بیمار مشاهده شد و همچنین ارتباط معنی داری بین نوع ژنوتیپ ها با اندازه تومور مشاهده گردید. فراوانی تومورها نیز در زنان نسبت به مردان در حدود ۳ برابر بیشتر بوده و سرطان پاپیلاری تیروئید بیشترین شیوع را در میان بیماران داشت. با مقایسه درجه تومور افراد مورد مطالعه، فراوانی تومورهای درجه یک نسبت به سایر درجات بیشتر بود که نشان دهنده تشخیص زود هنگام و به موقع تومورهای تیروئید می باشد.

نتایج حاصل از بررسی SNP با نرم افزار Alibaba نشان داد که با تغییر آلل وحشی به آلل موتانت به ترتیب فاکتورهای رونویسی USF، NF-1، GR، NF-1، SP-1، قابلیت اتصال پیدا می کنند. یکی از موارد مورد تحقیق در تعیین پیش آگهی سرطان تیروئید، بررسی پلی مورفیسم های تک نوکلئوتیدی است که می تواند به یافتن راه های درمانی جدید و پیش آگهی کمک کند. rs1467465 (A>G) یک پلی مورفیسم اینترونی بوده و بین اگزون ۴ و ۵ ژن ICB-1 قرار دارد (۷).

Springwald و همکاران در طی مطالعه ای نشان دادند که پلی مورفیسم تک نوکلئوتیدی rs1467465 از ژن ICB-1 انسان ممکن است استعداد ابتلا به سرطان سینه را تحت تأثیر قرار دهد (۶). نتایج مطالعه آنها نشان داد که در بیماران مبتلا به سرطان سینه نسبت به افراد سالم فراوانی آلل A بیشتر بوده، بنابراین فراوانی آلل A این پلی مورفیسم می تواند با افزایش خطر ابتلا به سرطان سینه همراه باشد و همچنین فراوانی ژنوتیپ هموزیگوت AA این پلی مورفیسم در گروه بیمار نسبت به گروه کنترل به طور قابل توجهی بالا بوده که نشان می دهد ژنوتیپ هموزیگوت AA با افزایش بروز سرطان سینه همراه است (۶). Schüler و همکاران نیز نشان دادند که پلی مورفیسم تک نوکلئوتیدی rs1467465 از ژن ICB-1 انسان ممکن است استعداد ابتلا به سرطان تخمدان را تحت تأثیر قرار دهد (۷) آنها با مقایسه فراوانی ژنوتیپ ها بین بیماران مبتلا به سرطان تخمدان نشان دادند، بیشترین فراوانی مربوط به ژنوتیپ هتروزیگوت AG پلی مورفیسم تک نوکلئوتیدی rs1467465 از ژن ICB-1 بوده و ارتباط ژنوتیپ- فنوتیپ نشان داد که ژنوتیپ هتروزیگوت rs1467465 می تواند یک عامل خطر برای ایجاد سرطان تخمدان باشد و فراوانی ژنوتیپ های هموزیگوت در این مطالعه بین هر دو گروه تفاوت معنی داری نداشت و با آنالیز فراوانی آلل های این پلی مورفیسم به این نتیجه رسیده اند که در زنان مبتلا به سرطان تخمدان، آلل A rs1467465 نسبت به زنان بدون بدخیمی تخمدان به طور قابل توجهی بیشتر است (۷). در مطالعه حاضر نیز همسو با دو مطالعه ذکر شده، ارتباط معنی داری بین پلی مورفیسم مورد مطالعه و خطر ابتلا به سرطان تیروئید یافت شد.

به طور کلی با مقایسه هر سه نوع مطالعه به این نتیجه می رسیم که فراوانی آلل A در بیماران مبتلا به سرطان سینه و تخمدان نسبت به افراد سالم بیشتر بوده، در حالی که در بیماران مبتلا به سرطان تیروئید نسبت به افراد سالم فراوانی آلل G بیشتر بوده است و بیشترین فراوانی ژنوتیپی در دو مطالعه سرطان تخمدان و تیروئید مربوط به ژنوتیپ AG بود که می تواند یک عامل خطر برای ایجاد سرطان باشد. تفاوت دیگری که می توانیم به آن اشاره کنیم این می باشد که در دو مطالعه مربوط به سرطان سینه و تخمدان تمامی بیماران و افراد کنترل، زن بودند، در حالی که برای مطالعه حاضر محدودیتی از نظر جنسیت وجود نداشته و هر دو جنس زن و مرد سالم و بیمار در این مطالعه مشارکت داشتند و همچنین لازم به ذکر است که در هر کدام از این مطالعات تعداد افراد شرکت کننده، همسان سازی (از نظر سن، جنسیت)، میانگین سنی مورد بررسی و منطقه جغرافیایی نیز متفاوت بوده است. در ضمن شایان ذکر است که نوع سرطان ها متفاوت بوده و بایستی عوامل ژنتیکی و اپی ژنتیکی را نیز در نظر گرفت.

در این مطالعه، ما پلی مورفیسم های اینترونی را بدون ارتباط عملکردی مشخص مورد بررسی قرار دادیم، زیرا ژن ICB-1 SNP ها را در اگزون ها یا در محل های اتصال فاکتور رونویسی نشان نمی دهد. مطالعات متعدد ارتباط بین SNP های اینترونی و خطر بیماری را گزارش کرده اند (۹-۱۱). SNP های اینترونی می توانند بر روی سیگنال های تقویت کننده یا خاموش کننده پیرایش اینترونی اثر بگذارند و در نتیجه بیان انواع مختلف اسپلایس را تعدیل کنند (۱۲). ICB-1 فاقد هرگونه فعالیت آنزیمی یا دمین های تعاملی پروتئینی پیش بینی شده است، اما دارای تعدادی از جایگاه های پیش بینی شده فسفوریلاسیون تیروزین می باشد (۱۳).

به طور کلی در پروژه تحقیقاتی حاضر فراوانی آللی و توزیع ژنوتیپ های مختلف پلی مورفیسم rs1467465 ICB-1 در جمعیت آذری- ایرانی گزارش می شود. با توجه به نتایج حاصل، فراوانی ژنوتیپ های AG و GG این پلی مورفیسم در جمعیت مورد مطالعه همراهی معنی داری با خطر ابتلا به سرطان تیروئید دارد، در صورتی که فراوانی آللی این پلی مورفیسم در جمعیت مورد مطالعه همراهی معنی داری با خطر ابتلا به سرطان تیروئید ندارد، بنابراین می توان این پلی مورفیسم را به عنوان عامل مستعد کننده برای سرطان تیروئید در نظر گرفت. در بررسی ارتباط علائم بالینی و ژنوتیپ تنها ارتباط معنی داری بین این پلی مورفیسم و اندازه تومور وجود دارد.

پیشنهاد: مطالعه همراهی این پلی مورفیسم و پلی مورفیسم های دیگر این ژن، در سرطان تیروئید و دیگر سرطان های شایع در سایر مناطق ایران و جهان توصیه می شود.

تضاد منافع: این تحقیق هیچ تضاد منافعی با افراد یا سازمان ها ندارد.

تقدیر و تشکر

بدینوسیله از حمایت های معاونت پژوهشی دانشگاه شهید مدنی آذربایجان، قدردانی می گردد.

References

1. Guenter R, Patel Z, Chen H. Notch signaling in thyroid cancer. In: Reichrath J, Reichrath S, editors. Notch Signaling in Embryology and Cancer. Springer, Cham; 2021. p .155-68.
2. Treeck O, Strunck E, Vollmer G. A novel basement membrane-induced gene identified in the human endometrial adenocarcinoma cell line HEC1B. FEBS Lett. 1998;425(3):426-30.
3. Treeck O, Schüler S, Häring J, Skrzypczak M, Latrich C, Ortmann O. ICB-1 Gene counteracts growth of ovarian cancer cell lines. Cancer Lett. 2013;335(2):441-6.
4. Bollmann J, Ortmann O, Treeck O. Expression of differentiation-associated gene icb-1 is estrogen-responsive in ovarian and breast cancer cell lines. J Steroid Biochem Mol Biol. 2008;109(1-2):16-21.
5. Konwisorz A, Springwald A, Haselberger M, Goerse R, Ortmann O, Treeck O. Knockdown of ICB-1 gene enhanced estrogen responsiveness of ovarian and breast cancer cells. Endocr Relat Cancer. 2010;17(1):147-57.
6. Springwald A, Latrich C, Seitz S, Ortmann O, Treeck O. Single nucleotide polymorphisms in human gene icb-1 and breast cancer susceptibility. Cancer Invest. 2009;27(6):669-72.
7. Schüler S, Latrich C, Skrzypczak M, Fehm T, Ortmann O, Treeck O. Icb-1 gene polymorphism rs1467465 is associated with susceptibility to ovarian cancer. J Ovarian Res. 2014;7:42.
8. 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.
9. Kumar A, Ghosh B. A single nucleotide polymorphism (A→ G) in intron 3 of IFN γ gene is associated with asthma. Genes Immun. 2008;9(4):294-301.
10. Jardin F, Ruminy P, Parmentier F, Picquenot JM, Courel MN, Bertrand P, et al. Clinical and biological relevance of single-nucleotide polymorphisms and acquired somatic mutations of the BCL6 first intron in follicular lymphoma. Leukemia. 2005;19(10):1824-30.
11. Crosbie PA, McGown G, Thorncroft MR, O'Donnell PN, Barber PV, Lewis SJ, et al. Association between lung cancer risk and single nucleotide polymorphisms in the first intron and codon 178 of the DNA repair gene, O6-alkylguanine- DNA alkyltransferase. Int J Cancer. 2008;122(4):791-5.
12. Paca-Uccaralertkun S, Damgaard CK, Auewarakul P, Thitithanyanont A, Suphaphiphat P, Essex M, et al. The Effect of a Single Nucleotide Substitution in the Splicing Silencer in the tat/rev Intron on HIV Type 1 Envelope Expression. AIDS Res Hum Retroviruses. 2006;22(1):76-82.
13. Peirce M J, Brook M, Morrice N, Snelgrove R, Begum S, Lanfrancotti A, et al. Themis2/ICB1 is a signaling scaffold that selectively regulates macrophage Toll-like receptor signaling and cytokine production. PLoS One. 2010;5(7):e11465.