Journal of
Babol University of Medical Sciences
مجله علمی دانشگاه علوم پزشکی بابل
e-ISSN: 2251-7170 p-ISSN: 1561-4107

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

Research Paper

Received:
May 1st 2021
Revised:
Sep 14th 2021
Accepted:
Feb 4th 2022

ABSTRACT

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.*

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

[DOR: 20.1001.1.15614107.1401.24.1.55.1]
[DOI: 10.22088/jbums.24.1.463]

Journal of
Babol University of Medical Sciences
مجله علمی دانشگاه علوم پزشکی بابل
e-ISSN: 2251-7170 p-ISSN: 1561-4107

همراهی پلی‌مورفیسم ژن *ICB-1* rs1467465 A>G در استعداد ابتلا به سرطان تیروئید

مریم علیزاده (MSc)[۱]، ناصر پولادی (PhD)[۱*]، محمدعلی حسینپور 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
مقاله پژوهشی

دریافت:
۱۴۰۰/۲/۱۱
اصلاح:
۱۴۰۰/۶/۲۳
پذیرش:
۱۴۰۰/۱۱/۱۵

چکیده

سابقه و هدف: مطالعات حاکی از آن است که پلی‌مورفیسم تک نوکلئوتیدی rs1467465 ژن *ICB-1* در سرطان های سینه و تخمدان همراهی دارد. این مطالعه با هدف بررسی همراهی پلی‌مورفیسم ژن *ICB-1* rs1467465 A>G در استعداد ابتلا به سرطان تیروئید انجام گرفت.

مواد و روش‌ها: در این مطالعه موردی- شاهدی خون محیطی ۹۲ بیمار مبتلابه سرطان تیروئید مراجعه‌کننده به بیمارستان های تبریز و ۲۰۳ فرد سالم تهیه شد. پس از استخراج DNA به روش نمک اشباع، پلی‌مورفیسم 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.

یافته‌ها: 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 پلی‌مورفیسم 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.

نتیجه‌گیری: 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 پلی‌مورفیسم ممکن است در تعیین خطر نسبی گسترش تومورهای تیروئیدی سهیم باشد.

واژه‌های کلیدی: سرطان تیروئید، ژن *ICB-1*، واکنش زنجیره‌ای پلیمراز.

استناد: مریم علیزاده، ناصر پولادی، محمدعلی حسینپور فیضی، رعنا مددی راد، سعیده امامی. همراهی پلی‌مورفیسم ژن *ICB-1* rs1467465 A>G 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

[DOR: 20.1001.1.15614107.1401.24.1.55.1]
[DOI: 10.22088/jbums.24.1.463]

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

* مسئول مقاله: دکتر ناصر پولادی
آدرس: تبریز، دانشگاه شهید مدنی آذربایجان، دانشکده علوم پایه، گروه زیست شناسی سلولی و مولکولی. تلفن: ۰۴۱-۳۱۴۵۲۱۰۳ رایانامه: Srna52@gmail.com

مقدمه

سرطان تیروئید شایع‌ترین بدخیمی سیستم غدد درون‌ریز است که شیوع آن به طور مداوم افزایش می یابد. اصطلاح سرطان تیروئید شامل طیفی از انواع مختلف به نام های سرطان پاپیلاری تیروئید، سرطان فولیکولار تیروئید، سرطان آناپلاستیک تیروئید و سرطان مدولاری تیروئید است (۱). ژن انسانی *ICB-1* که به نام های 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 سلول های توموری اندومتریال معرفی و کلون شد (۲). مطالعات اخیر نشان داد که *ICB-1* به عنوان سرکوب کننده تومور در سرطان تخمدان عمل می کند (۳). در مطالعه ای میانکنش بین ERα (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 پروموتر این ژن شناسایی شده است که بیان القا شده با استروژن را در سلول های سرطانی سینه و تخمدان ثابت کرده است (۴). خاموشی پایدار *ICB-1* در سلول های سرطانی سینه و تخمدان، پاسخ سلولی استروژن را به لحاظ تکثیر و بیان ژن افزایش داد و این نشان می دهد که *ICB-1* ممکن است یک رفتار آنتاگونیستی بر روی پاسخ سلولی استروژن اعمال کند (۵). بنابراین سطح فردی بیان I*CB-1* و انواع پیرایش های (Splicings) آن، که ممکن است نتیجه عوامل اپی‌ژنتیکی مختلف باشد، بعلاوه عوامل ژنتیکی می تواند بر شدت بیان ERα 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 پیش آگهی سرطان تیروئید، بررسی پلی‌مورفیسم‌های تک نوکلئوتیدی است که می تواند به یافتن راه های 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 سرطان های سینه و تخمدان به ترتیب توسط Springwald و همکاران و Schüler و همکاران در جمعیت زنان قفقازی گزارش شده است (۷و۶).

هدف از انجام این پژوهش، مقایسه فراوانی های 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 می باشد.

مواد و روش ها

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 مراجعه کننده به بیمارستان نور نجات و امام رضا (ع) تبریز و ۲۰۳ نمونه کنترل که هیچ گونه سابقه بیماری و ابتلا به سرطان تیروئید در آنها و اقوام درجه یک و دو آنها وجود نداشت پس از اخذ رضایت نامه کتبی انجام شد. تشخیص نوع و درجه بندی تومور توسط پاتولوژیست صورت گرفت.

استخراج DNA ژنومی از خون محیطی: در این پژوهش ۴ سی سی خون محیطی از بیماران دریافت و به لوله های 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 ۱/۵٪ در آزمایشگاه رادیوبیولوژی دانشکده علوم طبیعی دانشگاه تبریز مورد بررسی قرار گرفت.

تکنیک واکنش زنجیره ای پلیمراز: در این پژوهش برای بررسی پلی‌مورفیسم های A>G از تکنیک TETRA-ARMS-PCR (Tetra primer-Amplification Refractory Mutation System-Polymerase Chain Reaction) 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- CGACAGACCTTAGCCCGTGT -´3 و ´5- GGAGACAGGGTGTTCCTGG -´3 بودند و پرایمر رفت درونی با طول محصول ۱۹۸ bp دارای توالی ´5- CGTCATGTAGCATCTGGCACA -´3 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

[DOR: 20.1001.1.15614107.1401.24.1.55.1]
[DOI: 10.22088/jbums.24.1.463]

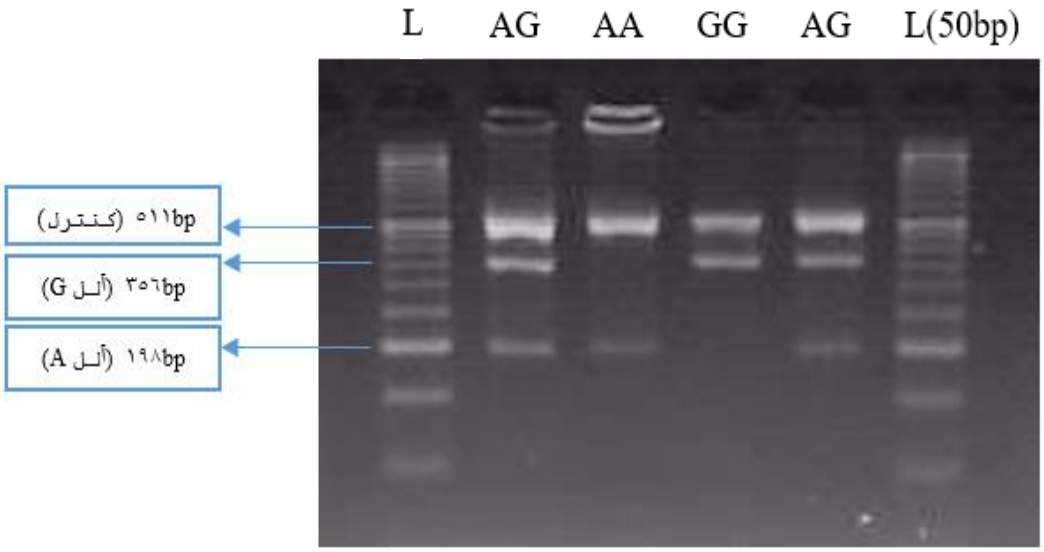
سانتی‌گراد انجام شد. در نهایت نتایج حاصل از تکنیک TETRA-ARMS-PCR بر روی ژل آگارز (پودر آگارز LE شرکت SinaClon ایران) ۳٪ مشاهده شد.

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 آزمون‌های 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 آنلاین نظیر Alibaba، HaploReg، rSNPBase، RNAsnp و Splice Aid 2 انجام گردید. برای مشخص کردن حضور جایگاه های اتصال دهنده فاکتور رونویسی فرضی در پلی‌مورفیسم از وب سایت Alibaba نسخه ۲/۱ استفاده شد. تعیین تمایل فاکتورهای رونویسی و پروتئین‌ها برای پلی‌مورفیسم مورد نظر با استفاده از وب سایت HaploReg نسخه ۴/۱ انجام شد. rSNPBase برای تعیین نقش تنظیمی نزدیک و دور پلی‌مورفیسم مورد استفاده قرار گرفت. از RNAsnp که تأثیر پلی‌مورفیسم 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

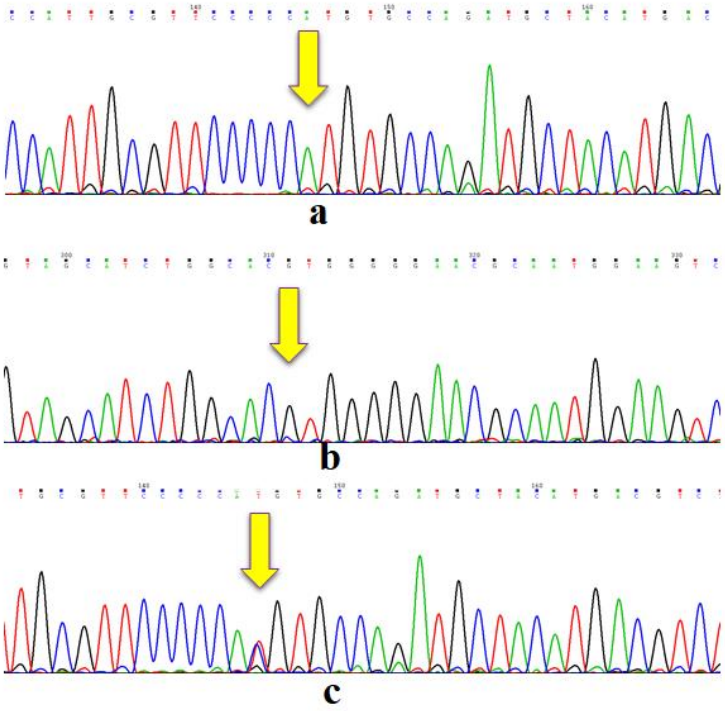
محصولات تکثیری حاصل از PCR به وسیله الکتروفورز بر روی ژل آگارز ۳٪ مشاهده شد. ژنوتیپ ها از چپ به راست به ترتیب AG، AA و GG می باشند. با تکثیر توالی هدف از ژن *ICB-1* توسط پرایمرهای سنتز شده، سه محصول مورد انتظار شامل قطعه ۵۱۱ جفت بازی برای باند کنترل، قطعه ۳۵۶ جفت بازی برای آلل G و قطعه ۱۹۸ جفت بازی برای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

[DOR: 20.1001.1.15614107.1401.24.1.55.1]
[DOI: 10.22088/jbums.24.1.463]



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

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<۰/۰۵ برای ژنوتیپ های AG (p=۰/۰۳۸) و GG (p=۰/۰۴۲) 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 پلی‌مورفیسم 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=۰/۰۲۳) مشاهده شد (جدول ۲).

[DOR: 20.1001.1.15614107.1401.24.1.55.1]
[DOI: 10.22088/jbums.24.1.463]

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

ویژگی های بالینی و آسیب شناختی	ژنوتیپ ها			
	AA	AG	GG	p-value*
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	

*p<۰/۰۵ 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 USF، NF-1، 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: SNPهای کاندید تنظیمی در مکان های مرتبط با بیماری است، در شکل ۳ آورده شده است. rSNPBase نیز نشان

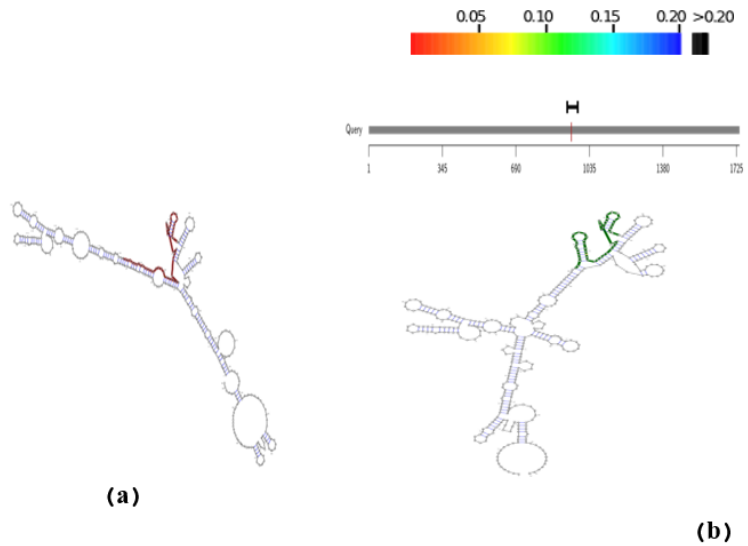
[DOR: 20.1001.1.15614107.1401.24.1.55.1]
[DOI: 10.22088/jbums.24.1.463]

داد که پلی‌مورفیسم مورد نظر ما تنها نقش تنظیمی دور دارد. تغییرات ساختار فضایی ناشی از پلی‌مورفیسم توسط نرم افزار آنلاین RNAsnp بررسی شد و با توجه به اینکه در این آنالیز p<۰/۲ به عنوان سطح معنی دار در نظر گرفته شده است؛ p-value به دست آمده بیشتر از ۰/۲ بود و طبق پیش بینی ساختار دوم RNA توسط نرم افزار آنلاین RNAsnp تغییری در ساختار دوم RNA ژن *ICB-1* rs1467465 A>G مشاهده نشد (p=۰/۸۵۲۳). همچنین بر اساس کمینه انرژی های به دست آمده برای توالی وحشی و موتانت می توان نتیجه گرفت که تغییر قابل ملاحظه‌ای در پایداری RNAهای وحشی و موتانت وجود نداشت (شکل ۴). نتایج حاصل از نرم افزار آنلاین Splice Aid 2 نشان داد که هیچ جایگاه اتصالی چه در حضور آلل وحشی و چه در حضور آلل موتانت برای عوامل مختلفی که به توالی pre-mRNA متصل می شوند، وجود ندارد.

Query SNP: rs1467465 and variants with r^2 >= 0.8

chr	pos (hg38)	LD (r^2)	LD (D')	variant	Ref	Alt	AFR freq	AMR freq	ASN freq	EUR freq	SiPhy cons	Promoter histone marks	Enhancer histone marks	DNAse	Proteins bound	Motifs changed	NHGRI/EBI 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	5 altered motifs		1 hit	5 hits	C1orf38	Intronic

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



شکل ٤. پیش بینی تغییر ساختار دوم RNA توسط نرم افزار آنلاین RNAsnp: مقایسه شماتیکی ساختار دوم RNA در حالت وحشی (a) (Minimum free energy= -۱۱٦/٥۰ kcal/mol) و حالت پلی‌مورف (b) (Minimum free energy= -۱۱٦/٦۰ 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.

[DOR: 20.1001.1.15614107.1401.24.1.55.1]
[DOI: 10.22088/jbums.24.1.463]

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

Springwald و همکاران در طی مطالعه ای نشان دادند که پلی‌مورفیسم 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 پلی‌مورفیسم می‌تواند با افزایش خطر ابتلا به سرطان سینه همراه باشد و همچنین فراوانی ژنوتیپ هموزیگوت AA این پلی‌مورفیسم 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 پلی‌مورفیسم 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 مبتلابه سرطان تخمدان نشان دادند، بیشترین فراوانی مربوط به ژنوتیپ هتروزیگوت AG پلی‌مورفیسم تک نوکلئوتیدی rs1467465 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 پلی‌مورفیسم 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 ذکرشده، ارتباط معنی داری بین پلی‌مورفیسم مورد مطالعه و خطر ابتلا به سرطان تیروئید یافت شد.

به طورکلی با مقایسه هر سه نوع مطالعه به این نتیجه می رسیم که فراوانی آلل A در بیماران مبتلابه سرطان سینه و تخمدان نسبت به افراد سالم بیشتر بوده، در حالی که در بیماران مبتلابه 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 هرکدام 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 اپی‌ژنتیکی را نیز در نظر گرفت.

در این مطالعه، ما پلی‌مورفیسم‌های اینترونی را بدون ارتباط عملکردی مشخص مورد بررسی قراردادیم، زیرا ژن *ICB-1* SNPها را در اگزون ها یا در محل های اتصال فاکتور رونویسی نشان نمی دهد. مطالعات متعدد ارتباط بین SNPهای اینترونی و خطر بیماری را گزارش کرده‌اند (۱۱-۹). SNPهای 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 پلی‌مورفیسم rs1467465 *ICB-1* در جمعیت آذری- ایرانی گزارش می شود. با توجه به نتایج حاصل، فراوانی ژنوتیپ های AG و GG این پلی‌مورفیسم در جمعیت مورد مطالعه همراهی معنی داری با خطر ابتلا به سرطان تیروئید دارد، در صورتی که فراوانی آللی این پلی‌مورفیسم در جمعیت مورد مطالعه همراهی معنی داری با خطر ابتلا به سرطان تیروئید ندارد، بنابراین می توان این پلی‌مورفیسم 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 پلی‌مورفیسم و اندازه تومور وجود دارد.

پیشنهاد: مطالعه همراهی این پلی‌مورفیسم و پلی‌مورفیسم 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.

[DOR: 20.1001.1.15614107.1401.24.1.55.1]
[DOI: 10.22088/jbums.24.1.463]

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, Lattrich 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, Lattrich 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, Lattrich 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 IFNγ 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.

[DOR: 20.1001.1.15614107.1401.24.1.55.1]

[DOI: 10.22088/jbums.24.1.463]