

ارتباط پلی مورفیسم نوکلئوتید ۱۵۶۲ ژن کلاژناز ۴ با سن شیوع و نوع بدخیمی در بیماران مبتلا به سرطان پستان

مرتضی صادقی^{۱*}، مجید متولی باشی^۲، زهره حجتی^۲

۱- عضو هیأت علمی گروه زیست شناسی دانشکده علوم دانشگاه اصفهان، ۲- استادیار گروه زیست شناسی دانشکده علوم دانشگاه اصفهان

سابقه و هدف: سرطان پستان شایع ترین بدخیمی در بین زنان و اولین عامل مرگ آنها در میانسالان است. از اینرو شناخت ژنهای دخیل در این بیماری نظیر کلاژناز تیپ ۴ که در جدائی سلولها از بافت پایه و بدخیمی آنها نقش داشته، از اهمیت زیادی برخوردار است. این مطالعه به بررسی ارتباط یک پلی مورفیسم عملکردی (C/T) در پروموتور این ژن با کاهش سن شیوع و همچنین محل متاستاز در بیماران سرطان پستان خواهد پرداخت.

مواد و روشها: این مطالعه مورد - شاهدی بر روی ۹۰ بیمار مبتلا به سرطان پستان دارای متاستاز و ۱۰۰ نفر افراد سالم انجام شد. برای بیماران هر دو ماه یکبار تستهای کلینیکی و کارهای درمانی انجام می شد. افراد تحت مطالعه بعد از تعیین ژنوتیپ به سه نوع CC، CT و TT تقسیم بندی شدند و نوع ژنوتیپ هر گروه با نوع متاستاز، سن متاستاز و همچنین منطقه درگیر در متاستاز بررسی شد. ابتدا برای ناحیه ژنی مربوط پرایمر طراحی شد و این ناحیه از طریق تکنیک PCR تکثیر شد و سپس با هضم آنزیم محدودکننده محصولات PCR، ژنوتیپ تک تک افراد برای این ناحیه مشخص گردید.

یافته ها: نتایج نشان داد که از ۹۰ بیمار متاستازی ۳۷ نفر دارای سن زیر ۴۷ سال بودند. ۴۱ نفر دارای متاستاز به غدد لنفاوی و ۲۱ نفر دارای متاستاز به استخوان های پهن لگن و کتف بودند. همچنین ارتباط معنی داری بین وجود آلل T و کاهش سن بدخیمی به زیر ۴۷ سال ($p < 0.001$ و $CI: 21/8 - 2/4$ و $OR: 7/3$) وجود داشت و همچنین در افراد دارای این آلل احتمال متاستاز به استخوان های پهن دو برابر بیشتر از متاستاز به غدد لنفاوی بود. **نتیجه گیری:** براساس یافته های این مطالعه وجود آلل T در پروموتور کلاژناز تیپ ۴ در افراد سرطانی یک فاکتور خطر برای کاهش سن متاستاز و همچنین احتمال متاستاز به استخوان های پهن (کتف و لگن) در مقابل غدد لنفاوی را بیشتر می کند.

واژه های کلیدی: سرطان پستان، پلی مورفیسم، متاستاز.

دریافت: ۸۷/۱/۳۱، **ارسال جهت اصلاح:** ۸۷/۴/۱۹، **پذیرش:** ۸۷/۶/۲۷

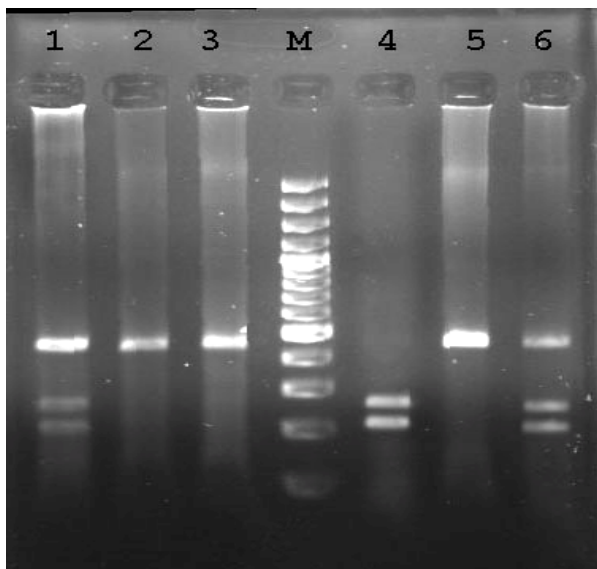
مقدمه

سرطان از بیماریهای مزمن بسیار خطرناک است که سلامت افراد را در سن های مختلف به خطر می اندازد و بر جسم و روان فرد و اجتماع تاثیرات جبران ناپذیری می گذارد. رشد روز افزون آمار سرطان پستان و به خصوص مرگ و میر ناشی از متاستاز آن بیانگر ضرورت تحقیقات بیشتر برای امکان مداخله و انجام اقدامات ضروری برای پیشگیری از این بیماری است (۱). برای زنان هیچ سرطانی نگران کننده تر از سرطان پستان نیست. این بیماری شایعترین بدخیمی در زنان سراسر دنیا بوده و شایعترین علت مرگ

زنان در سن ۴۰-۵۰ سال است (۲). مکانیسم ها و آنزیم های مختلفی در شروع و متاستاز سرطان پستان نقش دارند. یک خانواده از آنزیم هائی که در بدخیمی سرطان ها و متاستاز نقش دارند خانواده ماتریکس متالوپروتئینازهاست. این خانواده متشکل از ۲۶ آنزیم پروتئولیتیک است که در هضم ماتریکس خارج سلولی و اتصالات بین سلول ها ایفای نقش می کنند (۳و۴). اعضاء این خانواده از طریق هضم ماتریکس خارج سلولی می توانند باعث افزایش استعداد سلول ها برای جدائی از این بافت و در نتیجه

نزدیک گروه بیماران بودند. سپس با استفاده از روش نمکی میلر DNA ژنومی هر فرد استخراج شد (۱۰).

جهت آنالیز پلی مورفیسم C/T و مشخص شدن ژنوتیپ افراد، یک ناحیه از پروموتور ژن ماتریکس متالو پروتئیناز-۹ به طول ۴۶۰ جفت باز توسط پرایمر رفت با توالی 5'-GCC TGG CAC -3' و پرایمر برگشت با توالی 5'-ATA GTA GGC CC-3' و پرایمر برگشت با توالی 5'-CTT -3' توسط تکنیک PCR تکثیر شد. تکنیک PCR در حجم کل ۲۵ میکرولیتر با غلظت های زیر انجام گرفت: DNA ژنومی ۲۰-۱۰ ng، dNTP ۰/۲۵ mM، ۲MgCl₂ ۰/۳۵ mM، ۱۰ mM Tris-HCL، ۵۰ mM KCl، از هر پرایمر و یک واحد آنزیم Taq پلیمرز (شرکت سینا ژن). واکنش تکثیر به صورت زیر انجام گرفت: ۴ دقیقه در ۹۵ درجه به همراه ۳۰ سیکل هر سیکل شامل ۳۰ ثانیه در دمای ۹۴ درجه برای دناتورهاسیون، ۳۰ ثانیه در دمای ۵۸ درجه برای اتصال پرایمرها، ۳۰ ثانیه در دمای ۷۲ درجه برای فعالیت تکثیری آنزیم، در انتها ۱۰ دقیقه در دمای ۷۲ درجه. سپس نمونه های حاصل از تکثیر با استفاده از آنزیم محدود کننده Pae I که در جایگاه مربوط دارای سایت برش است و فقط آلل های تیمین را برش می دهد مورد برش قرار گرفت و بر روی ژل آگارز بررسی شد (شکل شماره ۱).



شکل شماره ۱. نتایج هضم آنزیمی ۶ نمونه بیمار متاستازی سرطان پستان. فرد شماره ۱ و ۶ دارای ژنوتیپ هتروزیگوت CT، فرد شماره ۴ دارای ژنوتیپ هموزیگوت TT، بقیه افراد دارای ژنوتیپ CC هستند (ستون M نشاندهنده مارکر 100bp).

افزایش قابلیت متاستاز آنها شوند. کلاژناز تیپ IV (ماتریکس متالوپروتئیناز-۹ یا MMP-9) یکی از مهمترین اعضا این خانواده است که به دلیل هضم کلاژن که از مهمترین ترکیبات غشاء پایه است نقش مهمی در سرطانی شدن سلول ها دارد (۵). تاکنون نتایج مختلفی از عملکرد این آنزیم در سرطان پستان به دست آمده که تقریباً همگی نشانگر نقش آن در پیشرفت سرطان است (۶،۷). بهم خوردن تنظیمات مولکولی ژن این آنزیم باعث تغییر در الگوهای بیان و بیان بیش از حد آن در بعضی از سلول ها می شود. یک پلی مورفیسم عملکردی T/C در ناحیه ۱۵۶۲ در پروموتور این ژن گزارش شده است که در این حالت آلل های واجد نوکلئوتید تیمین دارای رونویسی بیشتر از آللهای واجد نوکلئوتید سیتوزین هستند (۸). در این پلی مورفیسم رونویسی آلل های تیمین تقریباً ۱/۵ برابر آللهای سیتوزین گزارش شده است. ژنوتیپ تیمین در این پلی مورفیسم مانع اتصال پروتئین های مهار کننده رونویسی می شود و از این طریق باعث افزایش میزان رونویسی در آلل های واجد آلل تیمین می شود که این عامل باعث اهمیت این پلی مورفیسم در تحقیقات شده است (۹).

با توجه به آمار بالای سرطان پستان در ایران، مرگ و میر بالای ناشی از متاستاز و بدخیمی آن و نقش مهم کلاژناز ۴ در ایجاد حالت متاستاز در این مطالعه ارتباط پلی مورفیسم پروموتور این آنزیم که با بیان آن در ارتباط است با سن شیوع بدخیمی سرطان پستان و همچنین نوع متاستاز به غدد لنفاوی یا استخوان های پهن بیماران بررسی شد تا در صورت امکان بتوان از این پلی مورفیسم به عنوان یک مارکر ژنتیکی برای تشخیص افراد دارای ژنوتیپ پر خطر سرطان پستان استفاده کرد.

مواد و روشها

این مطالعه مورد - شاهی بر روی دو گروه افراد شامل ۹۰ نفر بیماران سرطانی دارای متاستاز و ۱۰۰ نفر کنترل سالم صورت گرفت. برای بیماران سرطانی دارای متاستاز بستری یا مراجعه کننده به بیمارستان امید اصفهان در طی سالهای ۸۶-۸۴ لیست اطلاعات مربوط پر شد و از هر فرد شرکت کننده در مطالعه ۴CC خون وریدی گرفته شد. بیماران طی ۲۰ ماه انجام مطالعه هر دو ماه یکبار برای انجام تست های کلینیکی و درمان مراجعه کردند. بیماران دارای میانگین سنی ۴۷ سال بوده و افراد کنترل نیز زنان با میانگین سنی

جدول شماره ۱. فراوانی ۳ نوع ژنوتیپ (CC,CT,TT) در
بیماران سرطان پستان دارای سن زیر ۴۷ سال با گروه کنترل

ژنوتیپ	افراد سالم	بیماران سرطانی	*OR(CI)
تعداد(%)	تعداد(%)		
C/C	۴۳(۸۹/۵)	۲۰(۵۴)	۱
C/T	۵(۱۰/۵)	۱۵(۴۰/۵)	۶/۵(۲/۱-۱۹/۵)
T/T	۰	۲(۵/۵)	
CT+TT	۵(۱۰/۵)	۱۷(۴۶)	۷/۳(۲/۴-۲۱/۸)

 * نسبت شانس با فاصله اطمینان ۹۵٪
 $p=0/001$
جدول شماره ۲. فراوانی ۳ نوع ژنوتیپ (CC,CT,TT) در
بیماران سرطان پستان دارای سن بالای ۴۷ سال با گروه کنترل

ژنوتیپ	افراد سالم	بیماران سرطانی	*OR(CI)	p.value
تعداد(%)	تعداد(%)			
C/C	۴۸(۹۲)	۳۷(۷۰)	۱	
C/T	۸(۱۵)	۱۳(۲۴/۵)	۴/۲(۱/۳۲-۱۳/۸)	۰/۰۱۷
T/T	۰	۳(۶/۵)		
CT+TT	۸(۱۵)	۱۶(۳۰)	۵/۲(۱/۷-۱۶)	۰/۰۰۵

* نسبت شانس با فاصله اطمینان ۹۵٪

جدول شماره ۳. توزیع ژنوتیپی در بیماران دارای متاستاز به
غدد لنفاوی و بیماران دارای متاستاز به استخوان های پهن

ژنوتیپ				متاستاز
OR	TT (%)	CT (%)	CC (%)	
غدد لنفاوی				
۱/۰	۳(۸)	۱۲(۳۱/۵)	۲۳(۶۰/۵)	منفی (n=۳۸)
	۷(۱۷/۲)	۱۵(۳۶/۵)	۱۹(۴۶/۳)	مثبت (n=۴۱)
استخوان				
۲/۴۰۰	۳(۱۷/۶)	۵(۲۹/۴)	۹(۵۲/۹)	منفی (n=۳۸)
	۲(۹)	۸(۳۸)	۱۱(۵۲)	مثبت (n=۳۸)

 $p=NS$
بحث و نتیجه گیری

نتایج این مطالعه نشان داد که در بیماران زیر ۴۷ سال وجود آل T با میزان پائین تری ($OR=5/2$) با بدخیمی سرطان پستان در ارتباط است. بنابراین وجود آل T احتمال بدخیمی در سنین زیر ۴۷

بعد از هضم آنزیمی نمونه های PCR هر فرد، افراد بر حسب

ژنوتیپ آللی تشخیص داده شده برای منطقه پلی مورفیسم مورد نظر در ژن کلاژناز-۴ به سه گروه دارای (ژنوتیپ CC)، (ژنوتیپ CT) و (ژنوتیپ آللی TT) تقسیم بندی شدند و نوع ژنوتیپ هر گروه با نوع متاستاز، سن متاستاز و همچنین منطقه درگیر در متاستاز بررسی شد. بدین ترتیب ژنوتیپ آللی تک تک افراد مشخص شد. سپس با استفاده از آزمون مربع کای و برای بررسی ارتباط نوع آلل در ناحیه مورد نظر (C یا T) با سن بدخیمی از آنالیز واریانس استفاده شد و $p<0/05$ معنی دار در نظر گرفته شد.

یافته ها

ژنوتیپ های CC، CT و TT به ترتیب در ۹۱٪، ۹٪ و ۰٪ از نمونه های کنترل و ۳/۳٪، ۳۱/۱٪ و ۵/۶٪ از نمونه های سرطانی متاستازی مشاهده شد. از ۹۰ نفر بیمار ۳۷ نفر دارای سن زیر ۴۷ سال بودند. همچنین ۴۱ نفر دارای متاستاز به غدد لنفاوی و ۲۱ نفر دارای متاستاز به استخوان های پهن لگن و کتف بودند. بررسی یافته ها و مقایسه فراوانی سه ژنوتیپ CC، CT و TT در بین بیماران زیر ۴۷ سال نشان داد که وجود آلل تیمین با میزان OR برابر ۷/۳ با این رده سنی و حالت متاستاز در ارتباط است (جدول شماره ۱). نتایج هضم آنزیمی نشان داد در افراد دارای ژنوتیپ هتروزیگوت CT، از انجائیکه آنزیم فقط دارای جایگاه برش در آللهای حامل نوکلئوتید T است در آلل T باند ۴۶۰ جفت بازی به دو باند ۲۰۲ و ۲۵۸ جفت بازی تبدیل شده ولی باند ۴۶۰ جفت بازی آلل C بدون هضم باقی مانده در افراد دارای ژنوتیپ هموزیگوت TT هر دو آلل برش یافت (باندهای ۲۰۲ و ۲۵۸ جفت بازی) و بقیه افراد که دارای ژنوتیپ CC بودند آنزیم هیچکدام از آللهای آنها را برش نداد (شکل شماره ۱) (ستون M نشاندهنده مارکر 100bp). همچنین مقایسه سه ژنوتیپ CC، CT و TT در بین ۵۳ بیمار متاستازی بالای ۴۷ سال نشان داد که ژنوتیپ CT با OR برابر ۴/۲ و وجود آلل T با OR برابر ۵/۲ با متاستاز در این رده سنی بیماران در ارتباط است (جدول شماره ۲). از بررسی ناحیه درگیر در متاستاز و نوع ژنوتیپ بیماران در ۶۲ مشخص شد که وجود آلل T با میزان OR برابر ۱ با درگیر کردن متاستاز غدد لنفاوی و با میزان OR برابر ۲/۴ در درگیر کردن استخوانهای پهن در متاستاز سرطان پستان در ارتباط است (جدول شماره ۳).

سال را دو برابر افزایش می دهد که این یافته ها تأیید کننده عملکرد افزایش بیان این آنزیم و کاهش سن متاستاز در افراد دارای آل تیمین است. اکثر بیماران در این مطالعه دارای متاستاز به دو بافت غدد لنفاوی زیر بغل و استخوان های پهن لگن و کتف بودند. همچنین نتیجه این بررسی نشان داد که وجود آل تیمین ارتباطی با متاستاز به غدد لنفاوی ندارد به عبارت دیگر فراوانی این آل در این افراد و افراد دارای متاستاز به نواحی دیگر برابر بود ($OR=1$) ولی از مقایسه ژنوتیپ افراد دارای متاستاز به استخوان مشخص شد وجود آل تیمین با میزان $OR=2/4$ در درگیر کردن استخوان های پهن در متاستاز سرطان پستان نقش دارد.

شناسایی عوامل مولکولی دخیل در سرطان مثل پلی مورفیسم یکی از موارد ارزشمند برای پیشگیری و درمان این بیماری است. Zhang با استفاده از ژن لوسیفراز به عنوان ژن گزارشگر نشان داد که وجود یک پلی مورفیسم تک نوکلئوتیدی C/T در پروموتور ژن MMP-9 باعث افزایش بیان این ژن در آل های تیمین می شود (۸). تا کنون نقش این پلی مورفیسم در سرطانهای مختلف از جمله سرطان های معده، سر و گردن، سینه، پروستات، بافت مغز، ملانوم و لنفوم مشخص شده است (۱۷-۱۱).

Matsumura نیز با مطالعه ای در کشور ژاپن نشان داد که این پلی مورفیسم با گسترش متاستاز و بدخیمی در بیماران سرطان معده در ارتباط است. همچنین این اولین مطالعه ای بود که در آن به طور همزمان اثر این پلی مورفیسم با سن شروع بدخیمی در بیماران نیز بررسی شد ولی ارتباط معنی داری بین سن شروع بدخیمی و نوع ژنوتیپ بیماران مشاهده نشد (۱۸). Sfar در مطالعه ای دیگر نشان داد که وجود آل تیمین به میزان بالایی با شروع سرطان پروستات به میزان بالاتری با گسترش تومور و بدخیمی این سرطان در ارتباط است (۱۹).

در مطالعه Przybylowska مشخص شد که وجود آل T در این جایگاه می تواند با بدخیمی سرطان پستان ($OR=2/9$) و متاستاز به غدد لنفاوی ($OR=3/2$) در جمعیت هلند در ارتباط باشد (۲۰). از عملکردهای کلاژناز-۴ علاوه بر هضم اتصالات سلولی

مانند کلاژنها و ژلاتین، رگزایی می باشد. رگزایی یکی از فاکتورهای اصلی شروع متاستاز در سرطانهای مختلف است (۲۲ و ۲۱). از اینرو در این مطالعه به بررسی ارتباط این پلی مورفیسم با سن شروع متاستاز و همچنین ناحیه درگیر در متاستاز پرداخته شد. طبق یافته های این تحقیق وجود آل تیمین در بیماران سرطانی می تواند تا دو برابر احتمال کاهش سن بدخیمی سرطان پستان به زیر ۴۷ سال افزایش دهد. این تفاوت با نتایج Matsumura می تواند ناشی از تفاوت های ژنتیکی یا تفاوت های آداب معاشرتی و تغذیه ای مردم ایران و ژاپن باشد. طبق یافته های این مطالعه بیماران سرطان پستان حامل آل تیمین به احتمال بیشتر درگیر متاستاز به استخوان های پهن می شوند تا متاستاز به غدد لنفاوی. بنابراین یافته های تحقیق حاضر برای جمعیت ایران (۲۰ و ۱۸) تأیید کننده یافته های محققین دیگر در جمعیت های دیگر است. البته برای تایید نهائی این نقش و استفاده از این پلی مورفیسم برای تشخیص کلینیکی، انجام یک مطالعه کاملتر از کل جامعه ایران با استخراج DNA از بافت استخوانهای پهن بیماران متاستازی و تعیین میزان بیان این آنزیم در بافت پیشنهاد می گردد.

بطور خلاصه یافته های این تحقیق بیانگر نقش افزایش بیان این آنزیم در آل تیمین و ارتباط آن با کاهش سن متاستاز و متاستاز به ناحیه استخوان های پهن در مقابل غدد لنفاوی در بیماران سرطان پستان است. همچنین وجود آل تیمین در این قسمت از پروموتور ژن کلاژناز ۴ بیماران سرطان پستان می تواند زنگ خطری برای شروع زودرس متاستاز در سنین پائین و به خصوص متاستاز به استخوان های پهن باشد.

تقدیر و تشکر

بدینوسیله از بخش تحصیلات تکمیلی دانشکده علوم دانشگاه اصفهان به خاطر فراهم کردن تجهیزات و از همکاری صمیمانه خانم دکتر سیمین همتی متخصص انکولوژی بیمارستان امید اصفهان برای همکاری در تأیید نمونه های سرطانی و مساعدت در بررسی وضعیت بیماران و تهیه نمونه خون تشکر می شود.

References

1. Parker SL, Tong T, Bolden S, Wingo PA. Cancer statistics. Cancer J Clin 1997; 47(2): 5-27.
2. Cotran S, Raobbins R. Pathologic basis of disease, 7th ed, United State, Philad Sau Co 1999; pp: 1623-6.

3. Sternlicht MD, Coussens LM, Vu TH, Werb Z. Biology and regulation of the matrix metalloproteinases. In: Clendeninn NJ, Appelt K, eds. Matrix metalloproteinase inhibitors in cancer therapy. Totowa, NJ: Humana Press 2001; pp: 1-37.
4. Nagase H. Substrate specificity of MMPs. In: Clendeninn NJ, Appelt K, eds. Matrix metalloproteinase inhibitors in cancer therapy. Totowa, NJ: Humana Press 2001; pp: 39-66.
5. Chambers AF, Matrisian LM. Changing views of the role of matrix metalloproteinases in metastasis. J Natl Cancer Inst 1997; 89(17): 1260-70.
6. Jones JL, Walker RA. Control of matrix metalloproteinase activity in cancer. J Pathol 1997; 183(4): 377-9.
7. Scorilas A, Karameris A, Arnogiannaki N, et al. Overexpression of matrix-metalloproteinase-9 in human breast cancer: a potential favourable indicator in node-negative patients. Br J Cancer 2001; 84(11): 1488-96.
8. Zhang B, Ye S, Herrmann SM, et al. Functional polymorphism in the regulatory region of gelatinase B gene in relation to severity of coronary atherosclerosis. Circulation 1999; 99(14): 1788-94.
9. Van Den Steen PE, Dubois B, Nelissen I, Rudd PM, Dwek RA, Opdenakker G. Biochemistry and molecular biology of gelatinase B or matrix metalloproteinase-9 (MMP-9). Crit Rev Biochem Mol Biol 2002; 37(6): 375-536.
10. Miller SA, Dybes DD, Polesky HF. A simple salting out procedure for extracting DNA from human nucleated cells. Nucleic Acids Res 1988; 16(3): 1215.
11. Murray GI, Duncan ME, Arbuckle E, Melvin WT, Fothergill JE. Matrix metalloproteinases and their inhibitors in gastric cancer. Gut 1998; 43(6): 791-7.
12. Hujanen ES, Vaisanen A, Zheng A, Tryggvason K, Turpeenniemi Hujanen T. Modulation of M(r) 72,000 and M(r) 92,000 type-IV collagenase (gelatinase A and B) gene expression by interferons alpha and gamma in human melanoma. Int J Cancer 1994; 58(4): 582-6.
13. Jones JL, Glynn P, Walker RA. Expression of MMP-2 and MMP-9, their inhibitors, and the activator MT1-MMP in primary breast carcinomas. J Pathol 1999; 189(2): 161-8.
14. Rao JS, Steck PA, Mohanam S, Stetler Stevenson WG, Liotta LA, Sawaya R. Elevated levels of M(r) 92,000 type IV collagenase in human brain tumors. Cancer Res 1993; 53(10 Suppl): 2208-11.
15. Sehgal I, Baley PA, Thompson TC. Transforming growth factor beta1 stimulates contrasting responses in metastatic versus primary mouse prostate cancer-derived cell lines in vitro. Cancer Res 1996; 56(14): 3359-65.
16. Chicoine E, Esteve PO, Robledo O, Van Themsche C, Potworowski EF, St Pierre Y. Evidence for the role of promoter methylation in the regulation of MMP-9 gene expression. Biochem Biophys Res Commun 2002; 297(4): 765-72.
17. Kallakury BV, Karikehalli S, Haholu A, Sheehan CE, Azumi N, Ross JS. Increased expression of matrix metalloproteinases 2 and 9 and tissue inhibitors of metalloproteinases 1 and 2 correlate with poor prognostic variables in renal cell carcinoma. Clin Cancer Res 2001; 7(10): 3113-9.
18. Matsumura S, Oue N, Nakayama H, et al. A single nucleotide polymorphism in the MMP-9 promoter affects tumor progression and invasive phenotype of gastric cancer. J Cancer Res Clin Oncol 2005; 131(1): 19-25.

19. Sfar S, Saad H, Mosbah F, Gabbouj S, Ghouchane L. TSP1 and MMP9 genetic variants in sporadic prostate cancer. *Cancer Genet Cytogenet* 2007; 172(1): 38-44.
20. Przybylowska K, Kluczna A, Zadrozny M, et al. Polymorphisms of the promoter regions of matrix metalloproteinases genes MMP-1 and MMP-9 in breast cancer. *Breast Cancer Res Treat* 2006; 95(1): 65-72.
21. Liotta LA, Tryggvasom K, Garbisa K, Hart I, Foltz CM, Shafie S. Metastatic potential correlates with enzymatic degradation of basement membrane collagen. *Nature* 1980; 284(5751): 67-8.
22. Folkman J. The role of angiogenesis in tumor growth. *Semin Cancer Biol* 1992; 3(2): 65-71.

ASSOCIATION OF A POLYMORPHISM IN 1562 PROMOTER NUCLEOTIDE OF COLLAGENASES IV WITH THE AGE AND TYPE OF METASTASIS IN BREAST CANCER

M. Sadeghi (MSc)^{1*}, M. Motovali Bashi (PhD)², Z. Hojati (PhD)²

1. * Academic Member of Biology Department, Faculty of Sciences, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran, ms.sadeghi@yahoo.com, 2. Assistant Professor of Biology Department, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran

BACKGROUND AND OBJECTIVE: Breast cancer is the most common malignancy among women and so leading cause of female death in middle age. So knowledge of the genes include in this disease such as collagenase-IV (MMP9) play important roles in cells segregation from the basic membrane and their metastasis. The aim of this study was to investigate the association between a functional polymorphism (C/T) at this gene promoter and its role in decrease of the age and so on location of metastasis in breast cancer patients.

METHODS: This case-control study was accomplished in 90 subjects of breast cancer patients with metastasis and 100 health subjects. The follow-up and clinical tests were performed every two months. After genotyping subjects of this study were categorized into three types including CC, CT and TT and then relation between the genotype of every group was investigated with the type, age and location of metastasis. For this aim first the related primers was prepared and this location was reproduced by PCR technique then the genotype of each person was investigated by PCR products restriction enzyme digestion.

FINDINGS: The results showed that from 90 subjects with metastasis, 37 subjects were under 47 years. Forty one subjects were with metastasis in lymphatic nodes and 21 subjects were with metastasis in wide bone. There was a significant association between the T allele exist and decrease of metastasis age under 47 years (OR= 7.31, 95% CI=2.4-21.8, $p<0.001$) and so the subject carrying this allele are two folds more susceptible for metastasis in wide bones in stead of lymphatic nodes.

CONCLUSION: According to the results of this study, the T allele in collagenase-IV promoter is a risk factor for decrease the age of metastasis and also a risk for metastasis to wide bones is more than lymphatic nodes in breast cancer.

KEY WORDS: Breast Cancer, Polymorphism, Metastasis.

Journal of Babol University of Medical Sciences 2009; 10(6): 7-13

Received: April 19th 2008, Revised: July 9th 2008, Accepted: September 17th 2008.