

افزایش خطر ابتلا به سرطان سینه با کاهش تعداد تکرارهای VNTR پرموتر ژن RHOB

نوربخش کریمیان^۱، پریسا محمدی نژاد^۲، مهدی مغنی باشی^{۳*}

تاریخ دریافت ۱۳۹۵/۰۵/۰۳ تاریخ پذیرش ۱۳۹۵/۰۷/۲۶

چکیده

پیش‌زمینه و هدف: سرطان سینه رایج‌ترین سرطان در میان زنان و دومین علت شایع مرگ ناشی از سرطان گزارش شده است. در ایران از هر ۱۰ تا ۱۵ زن، احتمال ابتلای یک زن به سرطان سینه وجود دارد. یکی از ژن‌هایی که با انواع سرطان‌ها ارتباط دارد، ژن RHOB است که کدکننده پروتئینی با عملکرد GTPase است و مطالعات نشان می‌دهد بیان این ژن در سرطان سینه افزایش می‌یابد. در انسان پرموتر ژن RHOB دارای یک چندشکلی VNTR است و در موقعیت ۸۲۰ جفت بازی بالادست جایگاه شروع رونویسی قرار دارد که دارای تکرارهای پشت سر هم ۳۴ جفت بازی است.

مواد و روش کار: در این مطالعه از ۱۳۸ نفر سالم به‌عنوان گروه شاهد و ۱۳۶ نفر بیمار مبتلا به سرطان سینه نمونه‌گیری خون به عمل آمد و پس از استخراج DNA، با تکنیک‌های PCR و الکتروفورز و درنهایت با آزمون‌های آماری کای ۲ و رگرسیون لجستیک، اطلاعات به‌دست‌آمده آنالیز شد.

یافته‌ها: در این مطالعه ۱۰ نوع آلل متفاوت در VNTR پرموتر ژن RHOB یافت شد که شایع‌ترین آن‌ها آلل‌هایی با ۹ و ۱۰ تکرار بودند و تعداد افراد بیماری که دارای آلل ۹ تکرار بودند به‌طور معنی‌داری نسبت به افراد سالم بیشتر بودند.

بحث و نتیجه‌گیری: نتایج نشان داد که آلل ۹ تکرار خطر ابتلا به سرطان سینه را به‌طور معنی‌داری افزایش می‌دهد، ($OR=0.515(95\%CI=0.317-0.836)$ [P=0.007]

کلیدواژه‌ها: سرطان سینه، ژن RHOB، VNTR، پرموتر، آلل ۹ تکرار

مجله پزشکی ارومیه، دوره بیست و هفتم، شماره هشتم، ص ۷۱۲-۷۰۶، آبان ۱۳۹۵

آدرس مکاتبه: شیراز- کازرون- دانشگاه آزاد اسلامی واحد کازرون- دانشکده پزشکی، تلفن: ۰۹۱۲۸۰۹۲۹۳۱

Email: mehdimoghani@yahoo.com

مقدمه

بین زنان ایرانی حداقل یک دهه نسبت به زنان جمعیت کشورهای توسعه‌یافته زودتر بروز می‌کند (۶). سرطان سینه یک بیماری به‌شدت ناهمگن است که نتیجه تأثیر متقابل عوامل خطر وراثتی و محیطی می‌باشد که منجر به تجمع پیش‌رونده تغییرات ژنتیکی و اپی ژنتیکی در سلول‌ها می‌شود. اگرچه شواهد اپیدمیولوژیکی بر وجود عامل‌های خطر ویژه (مانند سن، چاقی، مصرف الکل، برخورد با استروژن در طول زندگی، تغذیه، آلاینده‌های محیطی و مواجهه با اشعه) تأکید دارد (۷)، وجود سابقه خانوادگی سرطان سینه، قوی‌ترین عامل خطر برای این بیماری به شمار می‌آید. تقریباً ۲۰ درصد سرطان‌های سینه را انواع خانوادگی تشکیل می‌دهند و این افراد دارای ژن‌های مستعد کننده می‌باشند (۷).

سرطان سینه رایج‌ترین سرطان در میان زنان است. بر اساس آمارهای سازمان جهانی بهداشت از هر ۸ تا ۱۰ زن، یک نفر مبتلا به سرطان سینه می‌شود (۱). بر اساس آمارهای موجود، در ایران از هر ۱۰ تا ۱۵ زن، احتمال ابتلای یک زن به سرطان سینه وجود دارد (۱). سرطان سینه، دومین علت رایج مرگ ناشی از سرطان است (۲،۳) و معمول‌ترین علت مرگ افراد سرطانی در بین زنان جهان است (۴) و از سال ۱۹۸۰ میلادی به بعد با سرعت قابل‌توجهی در زنان ۵۰ ساله و مسن‌تر افزایش یافته است (۵). تحقیقات نشان می‌دهد که در اکثر نقاط دنیا سن متوسط بیماران مبتلا به سرطان سینه بیشتر از ۵۵ سال است درحالی‌که در ایران سن بروز ۴۹-۴۰ سال می‌باشد (۶) به عبارتی سرطان سینه

^۱ دانشجوی کارشناسی ارشد ژنتیک، دانشگاه آزاد واحد شهرکرد، شهرکرد، ایران

^۲ استادیار سلولی مولکولی، دانشکده علوم، دانشگاه آزاد واحد شهرکرد، شهرکرد، ایران

^۳ استادیار ژنتیک مولکولی، دانشکده علوم پزشکی، دانشگاه آزاد واحد کازرون، کازرون، ایران (نویسنده مسئول)

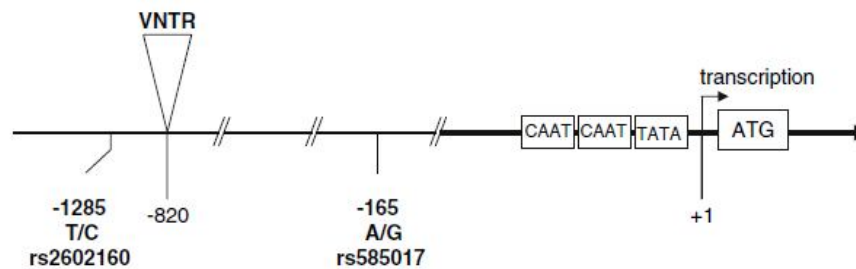
در اندازه کلونی این سلول‌ها نسبت به سلول‌های کنترل مشاهده کرده‌اند (۱۱).

در انسان پروموتور ژن RHOB دارای یک چندشکلی VNTR^۱ است که در موقعیت ۸۲۰ جفت بازی بالادست جایگاه شروع رونویسی قرار دارد و دارای تکرارهای پشت سر هم ۳۴ جفت بازی است و بین ۸-۱۴ بار این توالی تکرار می‌شود (شکل ۱) (۱۲). این توالی VNTR بر بیان ژن RHOB تأثیر می‌گذارد به طوری که افزایش تعداد تکرارها، موجب افزایش فعالیت رونویسی این ژن می‌شود (۱۳).

با توجه به تأثیر تعداد تکرارهای VNTR ناحیه پروموتوری بر بیان ژن RHOB و نقش این ژن در سرطان سینه، در این مطالعه ارتباط تعداد تکرارهای این VNTR با خطر ابتلا به سرطان سینه مورد بررسی قرار گرفت.

RhoB یکی از اعضای زیرگروه Rho Like (از خانواده GTPase ها) است (۸) که برای مرگ برنامه‌ریزی شده در سلول‌هایی که دچار آسیب DNA شده‌اند ضروری است (۹). همچنین فقدان RhoB در تکثیر یافتن سلول‌هایی که بدخیم شده‌اند، اهمیت دارد (۹). یافته‌ها نشان می‌دهد که RhoB تومورزایی را مهار می‌کند و از ایجاد تغییرات بدخیم شدن در سلول‌های نئوپلاستیک جلوگیری می‌کند (۹). مطالعات نشان داده است که در سلول‌های توموری، RhoB به صورت یک ژن مهارکننده عمل می‌کند که میانجی‌های فاکتور رشد در مسیر پیام‌رسانی، Akt را کاهش می‌دهد (۱۰). همچنین مشخص شده است که سرعت تکثیر سلول‌های تومور سینه در موش‌های RhoB^{-/-} نسبت به موش‌های RhoB^{+/+} افزایش داشته است و سلول‌هایی که RhoB در آن‌ها خاموش بوده است، مهاجرت سلولی کم‌تر و تکثیر بالایی داشته‌اند، همچنین افزایشی چشمگیر

شکل (الف)



شکل (ب)



شکل (۱): (الف) موقعیت پلی مورفیسم VNTR در پروموتور ژن RHOB (۱۳)
(ب) ترادف واحد تکراری پشت سرهم در پروموتور ژن RHOB (۱۳)

¹- Variable number of tandem repeats

مواد و روش کار**روش نمونه‌گیری و جامعه آماری:**

این مطالعه از نوع تحلیلی مورد-شاهدی^۱ می‌باشد. جامعه بیماران مورد مطالعه را افراد مبتلا به سرطان سینه تشکیل می‌دهند که توسط پزشک متخصص، سرطان سینه در آن‌ها تأیید شده است و نمونه خون آن‌ها در دسترس باشد، همچنین افراد سالمی که به سرطان سینه مبتلا نیستند، به‌عنوان جامعه آماری کنترل در نظر گرفته شده است.

از میان زنان مبتلا به سرطان سینه که بیماری آن‌ها توسط پزشک متخصص تأیید شده بود، ۱۳۶ نفر به‌طور تصادفی انتخاب شده و به‌عنوان گروه بیمار و ۱۳۸ نفر، فرد سالم که از لحاظ سن (± 5 سال) و جنس با گروه بیمار هماهنگی داشتند، به‌عنوان گروه کنترل یا شاهد در نظر گرفته شدند. سپس از هر کدام میزان ۳cc خون وریدی گرفته شد و در لوله‌های حاوی EDTA جمع‌آوری و تا زمان استخراج در دمای ۲۰- درجه سانتی‌گراد نگهداری گردید.

برای انجام این مطالعه پس از کسب رضایت از افراد بیمار و کنترل، عمل نمونه‌گیری و تکمیل پرسشنامه انجام شد و اطلاعات آن‌ها به‌طور محرمانه مورد استفاده قرار گرفت.

استخراج DNA و واکنش زنجیره‌ای پلیمرازی (PCR):

برای استخراج DNA از کیت شرکت ATP استفاده شد که طبق دستورالعمل کیت انجام شد. اساس این کیت، روش Salting out می‌باشد. سپس ناحیه‌ای از پروموتور ژن RHOB که حاوی VNTR مورد نظر است، با استفاده از پرایمرهای اختصاصی 5'-CCCCTCTTCTCCAGCCTCAA-3' و 3'-TTGACAACGGAAAGGGAAGGT-5' به‌عنوان پرایمر معکوس که با نرم‌افزار Oligo طراحی شدند، تکثیر گردید. کوتاه‌ترین قطعه‌ای که تکثیر شد دارای ۴ تکرار بود که طول آن ۳۵۱ جفت باز بوده است و قطعات بزرگ‌تر به ازای هر تکرار که افزایش یابد ۳۴ جفت باز بر طول آن افزوده می‌شود.

به‌منظور انجام PCR، ۵ میکرولیتر Taq 2xMaster Mix (Red 1 X) (شرکت AMOLIQON دانمارک)، ۰/۵ میکرولیتر از هر کدام از پرایمرهای F و R (۵pmol) (ماکروژن، کره جنوبی)، یک میکرولیتر نمونه DNA (۵۰ نانوگرم) و با آب مقطر به حجم ۱۰ میکرولیتر رسانده شد و مراحل واسرشتگی اولیه در دمای ۹۴ درجه سانتی‌گراد به مدت ۵ دقیقه، سپس واسرشتگی در دمای ۹۴ درجه سانتی‌گراد به مدت ۴۵ ثانیه، اتصال پرایمر در دمای ۶۲ درجه به

مدت ۳۰ ثانیه و طویل سازی در دمای ۷۲ درجه سانتی‌گراد به مدت یک دقیقه با تعداد ۲۸ سیکل و طویل سازی نهایی، ۵ دقیقه در دمای ۷۲ درجه سانتی‌گراد، واکنش PCR انجام شد.

انجام الکتروفورز با ژل آگارز:

برای تفکیک قطعات DNA ایجاد شده، محصول PCR بر روی ژل آگارز (سیناژن) ۲/۵ درصد الکتروفورز شد تا ژنوتیپ افراد مشخص گردد و از رنگ DNA Stain (کیژن، ایران) برای رنگ‌آمیزی استفاده شد که ایمن است.

یافته‌ها**بررسی ارتباط ژنوتیپ‌ها با خطر ابتلا به سرطان سینه:**

در این مطالعه آللهایی با تکرارهای ۴، ۵، ۸، ۹، ۱۰، ۱۱، ۱۲، ۱۳، ۱۴ و ۱۵ دیده شد که تکرارهای ۸ تا ۱۴ در مطالعات قبلی گزارش شده‌اند (۱۲) اما گزارشی از تکرارهای ۴، ۵ و ۱۵ نشده است. فراوانی ژنوتیپ‌های مشاهده شده، در جدول (۱) آورده شده است که بیشترین آللهای و ژنوتیپ‌ها مربوط به آللهای ۱۰ (۳۸/۶۸ درصد) و ۹ (۳۸/۱۳ درصد) و ژنوتیپ‌های ۹-۱۰ (۲۴/۸۱ درصد) و ۹-۹ (۱۹/۷۱ درصد) می‌باشد و کمترین آللهای مربوط به آللهای ۱۵ (۰/۰۰۲ درصد)، ۴ و ۱۴ (۰/۰۰۴ درصد) است و ژنوتیپ‌های ۴-۴، ۴-۱۱، ۸-۱۳، ۹-۱۳، ۱۰-۱۳، ۱۰-۱۵، ۱۰-۱۲، ۱۱-۱۴، ۱۱-۱۲ و ۱۲-۱۲ و ۱۳-۱۴ کمترین تعداد را به خود اختصاص دادند به‌طوری‌که از هر ژنوتیپ فقط یک مورد مشاهده شد.

در این مطالعه ژنوتیپ‌ها در گروه بیمار و کنترل در تعادل هاردی-واینبرگ نبودند. (در گروه بیمار: $P < 0.05$, $df=6$, $19/55$ و در گروه کنترل: $P < 0.05$, $df=6$, $X^2=31/36$).

با توجه به مطالعات قبلی که آلل ۹ تکرار نسبت به آللی که ۱۳ تکرار دارد، تأثیر کمتری در افزایش بیان ژن RHOB دارد (۱۳)، در این مطالعه، ژنوتیپ‌هایی که حداقل دارای یک آلل با ۹ تکرار بودند، در یک گروه و سایر ژنوتیپ‌ها در گروه دیگر قرار گرفتند (جدول ۲). آنالیزهای آماری نشان داد که گروه یک که ژنوتیپ‌های دارای آللی با ۹ واحد تکرار هستند نسبت به گروه دیگر بیشتر از ۰/۵ برابر خطر ابتلا به سرطان سینه را افزایش می‌دهند. آنالیز نتایج حاصل از این پژوهش با استفاده از نرم‌افزار SPSS 20 و آزمون‌های آماری رگرسیون لجستیک و کای ۲ انجام شد [OR=0.515(95%CI=0.317-0.836), P=0.007].

¹- case-control

جدول (۱): تعداد و فراوانی انواع ژنوتیپ‌هایی که مشاهده شده است.

ژنوتیپ	تعداد	فراوانی %
۴-۴	۱	۰/۳۶
۵-۱۰	۲	۰/۷۳
۸-۸	۶	۲/۱۹
۸-۹	۲۲	۸/۰۳
۸-۱۰	۱۲	۴/۳۸
۸-۱۱	۱	۰/۳۶
۹-۹	۵۴	۱۹/۷۱
۹-۱۰	۶۸	۲۴/۸۲
۹-۱۱	۵	۱/۸۳
۹-۱۲	۵	۱/۸۳
۹-۱۳	۱	۰/۳۶
۱۰-۱۰	۴۲	۱۵/۳۳
۱۰-۱۱	۳۹	۱۴/۲۳
۱۰-۱۲	۵	۱/۸۳
۱۰-۱۳	۱	۰/۳۶
۱۰-۱۵	۱	۰/۳۶
۱۱-۱۱	۵	۱/۸۳
۱۱-۱۲	۱	۰/۳۶
۱۱-۱۴	۱	۰/۳۶
۱۲-۱۲	۱	۰/۳۶
۱۳-۱۴	۱	۰/۳۶

جدول (۲): طبقه‌بندی ژنوتیپ‌ها در دو گروه بر اساس وجود یا عدم وجود آلل ۹ تکراری

ژنوتیپ‌ها	گروه
۹-۹، ۸-۹، ۹-۱۰، ۹-۱۱، ۹-۱۲، ۹-۱۳	۱
۴-۴، ۵-۱۰، ۸-۸، ۸-۱۰، ۸-۱۱، ۱۰-۱۰، ۱۰-۱۱، ۱۰-۱۲، ۱۰-۱۳، ۱۰-۱۵، ۱۱-۱۱، ۱۱-۱۲، ۱۱-۱۴، ۱۲-۱۲، ۱۳-۱۴	۲

بحث و نتیجه‌گیری

مطالعات نشان می‌دهد که RhoB به‌عنوان یک مهارکننده تومور است (۱۴). Zhi Chen و همکارانش در سال ۲۰۰۰ میلادی نشان دادند که RhoB یک مهارکننده توانا در مهار رشد تومور سلول‌های انسان در بدن موش‌های برهنه است. به‌علاوه RhoB یک مهارکننده توانا در مهار رشد تومورهای انسان در *in vitro* است. RhoB همانند P53 در مهار تشکیل سلول‌های سرطانی در انسان نقش دارد (۱۵). Fritz G؛ و همکارانش در تحقیقات خود نشان

دادند که بیان ژن RHOB با سرطان سینه در ارتباط است (۱۶). در سال ۲۰۱۲ Kazerounian S. و همکارانش در مطالعات دیگر ثابت کردند که فقدان RhoB مرحله شروع و رشد اولیه سرطان سینه را تحریک می‌کند و درنهایت به این نتیجه رسیدند که نقص RhoB موجب تأخیر در پیشرفت تومور می‌شود که به‌طور مستقیم و غیرمستقیم بر رگ زایی تومور تأثیر می‌گذارد و هم در مسیر وابسته به Akt و هم غیر وابسته به Akt دخالت دارد (۱۱). Claire Medale-Giamarchi و همکارانش در سال ۲۰۱۳ با مطالعاتی

Mahr در سال ۲۰۰۷ گزارش کرد که آلل با ۱۳ واحد تکراری نسبت به آللی با ۹ واحد تکرار، به میزان بیشتری بیان ژن RHOB را افزایش می‌دهد (۱۳) که با نتایج مطالعه حاضر که ژنوتیپ‌هایی با آلل ۹ خطر ابتلا به سرطان سینه را افزایش می‌دهند، هم راستا به نظر می‌رسد. چرا که احتمالاً این ژنوتیپ‌ها باعث کاهش بیان ژن RHOB خواهند شد در نتیجه تأثیر مهارکنندگی آن بر روی خطر ابتلا به سرطان سینه هم کاهش یافته و بروز این سرطان در افرادی که این آلل را دارند را افزایش می‌دهد. همچنین نتایج این مطالعه با نتایج Tovar و Mazieres که ژن RHOB را مهارکننده ایجاد سرطان می‌دانند و نقش این VNTR را یک نقش تنظیمی در بیان این ژن می‌داند (۱۲ و ۱۹) هم خوانی دارد.

علاوه بر این Mahr در جمعیتی که مورد مطالعه قرار داده است، اعلام کرده است که آلل‌هایی با ۱۰ و ۱۱ تکرار بیشترین و آلل با ۸ تکرار کم‌ترین فراوانی را دارند اما در مطالعه حاضر بیشتر افراد دارای آلل‌هایی با ۹ و ۱۰ واحد تکرار بودند و کم‌ترین تعداد مربوط به آلل‌هایی با ۵، ۴، ۱۴ و ۱۵ تکرار است. به‌طور کلی نتایج این مطالعه نشان می‌دهد که آلل با ۹ تکرار در VNTR پروموتور ژن RHOB یک فاکتور خطر برای ابتلا به سرطان سینه می‌باشد.

پیشنهادهات

با توجه به نتایج این مطالعه، پیشنهاد می‌شود ارتباط VNTR پروموتور ژن RHOB با خطر ابتلا سرطان سینه در جمعیت وسیع‌تر و همچنین با سایر سرطان‌ها بررسی شود و در صورت به دست آمدن نتایج مشابه می‌توان از آن به‌عنوان یک مارکر در غربالگری افراد مستعد ابتلا به سرطان سینه و دیگر سرطان‌ها استفاده کرد.

تشکر و قدردانی

این مقاله برگرفته از پایان‌نامه کارشناسی ارشد می‌باشد و لازم می‌دانیم از پرسنل بیمارستان سیدالشهدا (ع) اصفهان که در انجام این مقاله با ما همکاری نمودند و همچنین از بیماران سرطانی و خانواده‌های محترم آن‌ها و همه کسانی که در تهیه این مقاله ما را یاری رساندند تشکر و قدردانی نماییم.

روی سرطان سینه گزارش دادند که بیان RhoB در بافت‌ها، با گیرنده استروژن و پروژسترون ارتباط مستقیم و با درجه و سطح تومور، اندازه تومور و تعداد تقسیم میتوز ارتباط معکوس دارد (۱۷). همچنین تحقیقات دیگر نشان داده است که RhoB مهارکننده تومور است و کاهش بیان آن موجب افزایش قدرت تهاجم تومور می‌شود (۱۸).

در انسان پروموتور ژن RHOB دارای یک چندشکلی VNTR است که در موقعیت ۸۲۰ جفت بازی بالادست جایگاه شروع رونویسی قرار دارد و دارای تکرارهای پشت سر هم ۳۴ جفت بازی است و بین ۸-۱۴ بار این توالی تکرار می‌شود (۱۲). این توالی VNTR بر بیان ژن RHOB تأثیر می‌گذارد به‌طوری‌که افزایش تعداد تکرارها، موجب افزایش فعالیت رونویسی این ژن می‌شود (۱۳).

Mazieres و همکارانش نشان دادند که مهارکننده هیستون داستیلاز بیان دوباره ژن RHOB را به‌طور چشمگیری القاء می‌کند و این فرایند توسط VNTR ناحیه ۵' ژن RHOB تعدیل می‌شود و نشان داده شده است که وقتی ترادف VNTR حذف شود مهارکننده هیستون داستیلاز موجب افزایش بیان RHOB نمی‌شود (۱۹).

با توجه به اهمیت پروتئین کد شونده توسط ژن RHOB در فرایند سرطان زایی و وجود VNTR در ناحیه پروموتور این ژن، در این مطالعه ارتباط خطر ابتلا به سرطان سینه و VNTR ناحیه پروموتوری این ژن مورد بررسی قرار گرفت. نتایج نشان داد که ژنوتیپ‌هایی که دارای آلل ۹ تکرار هستند و شامل ژنوتیپ‌های ۹-۱۰، ۹-۱۱، ۹-۱۲، ۹-۱۳، ۹-۱۴ و ۹-۱۵ می‌باشند خطر ابتلا به سرطان سینه را به‌طور معنی دار افزایش می‌دهند.

در سال ۲۰۰۳ Tovar و همکارانش ۷ نوع آلل از نظر تعداد تکرارها در پروموتور ژن RHOB گزارش کردند که شامل آلل‌هایی با تعداد تکرار ۸ تا ۱۴ می‌باشند (۱۲) این در حالی است که در این مطالعه ۱۰ نوع آلل متفاوت مشاهده شد به‌طوری‌که آلل‌هایی با ۴، ۵ و ۱۵ واحد تکرار در این مطالعه مشاهده شد که در مطالعات قبلی مشاهده نشده است.

References:

1. Nori dalooe M, Tabarestani S. Molecular genetic, diagnosis and treatment of breast cancer. Med J Sabzevar Univ 2010; 17(2): 74-87. (Persian)
2. Wiechmann L, Kuerer HM. The molecular journey from ductal carcinoma in situ to invasive breast cancer. Cancer 2008; 112: 2130-42.
3. Moore KL. Clinically Oriented Anatomy. 3rd eEd. Baltimor: Williams and Wilkins; 1992.

4. Timthy JK, Pia KV, Emily BS. Epidemiology of breast cancer. *Lancet Oncol* 2001; 2: 133-40.
5. Mousavi SM, Montazeri A, Mohagheghi MA, Mousavi JA, Harirchi I, Najfi M. Breast cancer in Iran an epidemiological review. *Breast J* 2007; 13(2): 383-91.
6. Harirchi I, Ebrahimi M, Zamani M, Jarvandi S, Montazeri A. Breast cancer in Iran: a review of 903 case records. *Public Health* 2000; 114: 143-5.
7. Antoniou AC, Easton DF. Models of genetic susceptibility to breast cancer. *Oncogene* 2006; 25: 5898.
8. Burridge K, Wennerberg K. Rho and Rac Center Stage. *Cell* 2004; 116(2): 167-76.
9. George C. Actin, up: RhoB in cancer and apoptosis. *Nature* 2001; 1(2): 162-8.
10. Lebowitz PF, Sakamuro D, Prendergast GC. Farnesyl transferase inhibitors induce apoptosis of Ras-transformed cells denied substratum attachment. *Cancer Res* 1997; 57: 708-13.
11. Kazerounian S, Gerald DR, Hung M, Chin YR, Udayakumar D, Zheng N et al. RhoB differentially controls Akt function in tumor cell and stromal endothelial cell during breast tumorigenesis. *Cancer Res* 2013; 73: 50-61.
12. Tovar D, Faye JC, Favre G. Cloning of the human RHOB gene promoter: characterization of a VNTR sequence that affects transcriptional activity. *Genomics* 2003; 81(5): 525-30.
13. Mahr S, Muller-Hilke B. Transcriptional activity of the RHOB gene is influenced by regulatory polymorphisms in its promoter region. *Genomic Med.* 2007; 1(4): 125-8.
14. Adnane J, Muro-Cacho C, Mathews L, Sebti SM, Munoz-Antonia T. Suppression of RhoB expression in invasive carcinoma from head and neck cancer patients. *Clin Cancer Res* 2002; 8: 2225-32.
15. Mazieres J, Antonia T, Daste G, Muro-Cacho C, Berchery D, Tillement V, et al. Loss of RhoB expression in human lung cancer progression. *Clin Cancer Res* 2004; 10: 2742-50.
16. Fritz G, Brachetti C, Bahlmann F, Schmidt M, Kainia B. Rho GTPase in human breast tumor. *Br.j.Cancer* 2002; 87: 635-44.
17. M'edule-GC, Lajoie-MI, Malissein E, Meunier E, Couderc B, Berge Y, et al. RhoB modifies estrogen responses in breast cancer cell by influencing expression of the estrogen receptor. *Breast Cancer Res* 2013; 15(1): 1-13.
18. Erin C. C, Koenraad Van Doorslaer, Leslie E. R, Charles E.R. Overexpression of miR-21 promotes an In vitro metastatic phenotype by targeting the tumor suppressor RHOB. *Mol Cancer Res* 2010; 8(5): 691-700.
19. Julien Mazieres, Daniel Tovar, Biao He, Jacobo Nieto-Acosta, Claire Marty-Detraves, Carine Clanet et al. Epigenetic regulation of RhoB loss expression in lung cancer. *BMC Cancer* 2007; 7: 220.

INCREASED RISK OF BREAST CANCER BY REDUCING THE NUMBER OF RHOB GENE PROMOTER VNTR REPEATS

Noorbakhsh Karimian¹, Parisa Mohamadynejad², Mehdi Moghanibashi^{3*}

Received: 25 Jul, 2016; Accepted: 18 Oct, 2016

Abstract

Background & Aims: Breast cancer is the most common cancer among women and the second most common cause of death from cancer. In Iran, of 10 to 15 women, one woman has the risk of breast cancers. The RHOB gene is one of the genes that is associated with cancer and the coding of the protein with GTPase functional and studies have shown that expression of this gene increases in breast cancer. The human-RHOB-gene promoter harbors a VNTR polymorphism which is located 820 bp upstream of the transcriptional start site which carries 34 bp tandem repeat.

Materials & Methods: In this study, blood samples were taken from 138 controls and 136 patients with breast cancer. After DNA extraction, PCR and electrophoresis were done and the collected data were analyzed with χ^2 and regression logistic tests.

Results: In this study, 10 different alleles in promoter VNTR of RHOB gene were found that most of them were alleles with 9 and 10 repeat. The number of sick people who have repeat allele 9 were significantly higher than the healthy controls.

Conclusion: The results showed that alleles with 9 repeat increases risk of developing breast cancer. [OR=0.515(95%CI=0.317-0.836), P=0.007]

Keywords: Breast Cancer, RHOB gene, VNTR, Promoter, 9-repeat allele

Address: School of Medicine, Kazerun Branch, Islamic Azad University, Kazerun, Shiraz, Iran

Tel: +989128092931

Email: mehdimoghani@yahoo.com

SOURCE: URMIA MED J 2016; 27(8): 712 ISSN: 1027-3727

¹ Master Student in Genetics, Shahrekord Branch, Islamic Azad University, Shahrekord, Iran

² Assistant Professor, Department of Biology, Shahrekord Branch, Islamic Azad University, Shahrekord, Iran

³ Assistant Professor, School of Medicine, Kazerun Branch, Islamic Azad University, Kazerun, Shiraz, Iran
(Corresponding Author)