

## ارتباط چندشکلی VNTR ژن NLRP3 با خطر ابتلا به سرطان معده

تاریخ دریافت مقاله: ۱۴۰۰/۵/۱۷؛ تاریخ پذیرش: ۱۴۰۱/۶/۴

## چکیده

**زمینه و هدف:** سرطان معده یکی از سرطان‌های شایع در سراسر جهان از جمله ایران می‌باشد که مرگ و میر بالایی دارد. یکی از عوامل موثر در ابتلا به سرطان معده، التهاب ناشی از افزایش عملکرد پروتئین Cryopyrin است که در انسان توسط ژن NLRP3 کد می‌شود. افزایش بیان این ژن منجر به تولید سایتوکاین های IL-1 $\beta$  و IL-18 شده و التهاب را افزایش می‌دهد. با توجه به نقش مهم ژن NLRP3، در این مطالعه نقش چندشکلی VNTR در ایترون ۴ ژن NLRP3 در استعداد ابتلا به سرطان معده بررسی شد.

**مواد و روش‌ها:** در این مطالعه چندشکلی VNTR ژن NLRP3 در ۱۰۰ فرد مبتلا به سرطان معده و ۸۸ فرد سالم با تکنیک PCR تعیین ژنوتیپ گردید. داده‌های به دست آمده با نرم افزار SPSS v21 و آزمون رگرسیون لجستیک آنالیز شدند. **یافته‌ها:** در این مطالعه ۱۵ نوع ژنوتیپ مختلف و ۷ نوع آلل در پلی مورفیسم VNTR ژن NLRP3 شناسایی شد که آلل ۱۲ تکرار و ژنوتیپ ۱۲/۱۲ بیشترین فراوانی را به خود اختصاص داد. همچنین برای اولین بار آلل ۱۴ تکرار شناسایی گردید. آنالیز نتایج نشان داد که ژنوتیپ ۱۲/۱۲ در مقایسه با سایر ژنوتیپ خطر ابتلا به سرطان معده را افزایش می‌دهد ( $p = 0.01$ ,  $OR = 0.32$ ,  $CI = 0.14 - 0.76$ ,  $value =$ ).

**نتیجه:** به نظر می‌رسد ژنوتیپ ۱۲/۱۲ در ایترون ۴ ژن NLRP3 خطر ابتلا به سرطان معده را افزایش می‌دهد.

**کلمات کلیدی:** سرطان معده، چندشکلی VNTR، ژن NLRP3

فايز خسروی<sup>۱</sup>، پریسا محمدی نژاد<sup>۲</sup>،  
محمد مهدی مغنی باشی<sup>۳</sup>

<sup>۱</sup> کارشناسی ارشد، گروه زیست شناسی، دانشکده علوم پایه، واحد شهرکرد، دانشگاه آزاد اسلامی، شهرکرد، ایران

<sup>۲</sup> استادیار، گروه زیست شناسی، دانشکده علوم پایه، واحد شهرکرد، دانشگاه آزاد اسلامی، شهرکرد، ایران

<sup>۳</sup> استادیار، گروه ژنتیک، دانشکده پزشکی، واحد کازرون، دانشگاه آزاد اسلامی، کازرون، ایران

## نویسنده مسئول:

استادیار، گروه زیست شناسی، دانشکده علوم پایه، واحد شهرکرد، دانشگاه آزاد اسلامی، شهرکرد، ایران

۰۹۱۳۳۱۹۱۲۶۹  
Email: parisa\_mohamadynejad@yahoo.com

## مقدمه

سرطان در کشورهای توسعه یافته و در حال توسعه به ترتیب اولین و دومین عامل مرگ می باشد. سرطان معده در جهان به عنوان چهارمین سرطان شایع و دومین عامل مرگ بر اثر سرطان شناخته می شود<sup>۱</sup>. براساس آمار سال ۲۰۰۵ بیشترین موارد این سرطان در کشورهای ژاپن، چین و روسیه مشاهده شده و کمترین موارد آن نیز مربوط به کشورهای توسعه یافته غربی می باشد<sup>۲</sup>. همان طور که از این داده ها استنباط می شود، شیوع سرطان معده در جمعیت های مختلف تفاوت قابل توجهی دارد که دو دلیل عمده برای آن ذکر می گردد: تفاوت زمینه ژنتیکی جمعیت کشورهای مختلف و تفاوت در سبک زندگی بخصوص عادات غذایی مانند مصرف نمک و غذاهای آماده. البته شیوع سرطان معده با میزان مرگ و میر ناشی از آن متفاوت است و پدیده دوم بیشتر به علت تشخیص دیرنگام سرطان معده در فاز پیشرفته بیماری می باشد<sup>۳</sup>. سرطان می تواند به صورت تک گیر (Sporadic) ایجاد گردد و یا منشأ ارثی داشته باشد و در خانواده ها تکرار شود. حدود ۱۰ درصد موارد این سرطان ارثی می باشد. در ایران ۵۰ درصد سرطان های شایع کشور مربوط به دستگاه گوارش است و از بین سرطان های دستگاه گوارش، سرطان معده از همه شایع تر است و میزان مرگ و میر بسیار بالایی به خصوص در مناطق شمال غرب کشور نشان می دهد و هرچه به سمت جنوب می رویم میزان مرگ و میر سرطان معده کاهش می یابد<sup>۴</sup>. در مورد عوامل خطر محیطی ایجاد سرطان معده می توان به نقش عفونت هلیکوباکتریلوری (*Helicobacter pylori*)، سبک زندگی و تغذیه اشاره نمود؛ عوامل ژنتیکی مرتبط با این سرطان هم عبارت اند از جهش ها و چندشکلی ها<sup>۵</sup>.

اگرچه بیش از ۹۹ درصد توالی DNA انسان در همه جمعیت ها یکسان است، اما چون ژنوم انسان بیش از سه میلیارد جفت باز دارد، کمتر از یک درصد تفاوت، معادل بیش از سه میلیون جفت باز می باشد که این تفاوت های ژنتیکی را چندشکلی می گویند. وجود میلیون ها چندشکلی در ژنوم انسان، باعث تنوع ژنتیکی وسیعی بین انسان ها شده است<sup>۶</sup>. پلی مورفیسم ها به دو دسته ی مارکرهای دو آللی مثل چندشکلی های تک نوکلئوتیدی (SNP) و مارکرهای چند آللی مثل تکرارهای پشت سرهم با تعداد متغیر (VNTR) تقسیم می شوند<sup>۷</sup>.

توالی های VNTR در سراسر ژنوم وجود داشته و هر واحد تکرار شونده دارای ۶۰-۱۰ جفت باز بوده که به صورت پی در پی صدها و حتی هزاران بار تکرار می شوند<sup>۸</sup>. چندشکلی های ژنتیکی در نواحی اگزونی، اینترونی و همچنین در نواحی تنظیم کننده مانند پروموتور قرار گرفته اند که می توانند نقش عملکردی داشته و باعث پاسخ های متفاوت افراد به عوامل محیطی یکسان شود بدین ترتیب حضور این چندشکلی ها استعداد افراد در ابتلا به بیماری های چند عاملی از جمله سرطان ها را تحت تاثیر قرار می دهند<sup>۹-۱۰</sup>.

التهاب با افزایش ناپایداری ژنومی از جمله جهش های انکوژنی و همچنین تغییر در پاسخ ایمنی می تواند باعث افزایش تومورزایی شود. اخیراً کمپلکسی به نام inflammasome شناسایی شده که در دفاع میزبان در برابر عوامل عفونی و اختلالات فیزیولوژیک نقش مهمی دارد. NLRP3 بخشی از این کمپلکس چند پروتئینی بوده که باعث فعال شدن کاسپاز ۱ می شود. کاسپاز یک نیز باعث ایجاد شکل فعال بیولوژیک اینترلوکین ۱ بتا و اینترلوکین ۱۸ شده و در نهایت التهاب را به همراه خواهد داشت<sup>۱۱-۱۲</sup>.

ژن NLRP3 دارای ۱۱ اگزون بوده و بر روی کروموزوم ۱ قرار گرفته (۱q44) و کدکننده پروتئینی به نام Cryopyrin می باشد. این ژن متعلق به یک خانواده از ژن هایی است که پروتئین هایی واجد موتیف ساختاری ۹۰ اسید آمینه ای به نام pyrin (PYD) کد می کنند. واریانت های ژن NLRP3 ممکن است پایداری mRNA این ژن و بیان آن را تحت تاثیر قرار دهد. یکی از این واریانت ها یک VNTR ۴۲ جفت بازی (rs74163773) در اینترون ۴ ژن NLRP3 می باشد که در جمعیت های مختلف تنوع آللی از آن مشاهده شده است و تاکنون آلل های ۶، ۷، ۹، ۱۲ و ۱۳ تکرار گزارش شده است<sup>۱۲</sup>. همچنین مشخص شده است که بیان آلل ۱۲ تکرار بیشتر از آلل های ۶، ۷ و ۹ تکرار است<sup>۱۳</sup>.

با توجه به نقش عملکردی VNTR قرار گرفته در اینترون ۴ ژن NLRP3 در بیان این ژن و نقش کلیدی این پروتئین در ایجاد التهاب و ارتباط التهاب با سرطانزایی در این مطالعه نقش این چندشکلی با استعداد ابتلا به سرطان معده مورد بررسی قرار گرفته است.

## مواد و روش ها

در ۶۰/۸ درجه و ۱ دقیقه در ۷۲ درجه سانتی گراد انجام شد. علاوه بر این ۵ دقیقه در دمای ۹۵ درجه به عنوان دناتوراسیون اولیه و ۵ دقیقه در دما ۷۲ درجه به عنوان طویل سازی نهایی نیز جزء برنامه بوده است. برای تعیین ژنوتیپ افراد، محصولات PCR بر روی ژل آگارز ۱/۵ درصد به مدت ۶۰ دقیقه با ولتاژ ۹۰ الکتروفورز شد. برای بررسی ارتباط چندشکلی VNTR ژن NLRP3 با خطر ابتلا به سرطان معده از نرم افزار SPSS نسخه ۲۱ و آزمون های آماری X2 و رگرسیون لجستیک با سطح معنی داری ۰/۰۵ استفاده شد.

### یافته ها

در این مطالعه ارتباط پلی مورفیسم VNTR در اینترون ۴ ژن NLRP3 با خطر ابتلا به سرطان معده در ۱۰۰ فرد مبتلا به سرطان معده (شامل ۳۷ زن و ۶۳ مرد) و ۸۸ فرد سالم از جمعیت عمومی به عنوان گروه کنترل که از لحاظ سن ( $\pm 5$  سال) و جنس همسان سازی شدند، مورد بررسی قرار گرفت. میانگین سنی در گروه کنترل و گروه بیماران به ترتیب  $59/12 \pm 86/90$  و  $60/20 \pm 13/53$  می باشد و با آزمون t نشان داده شد که تفاوت معناداری بین میانگین سنی دو گروه وجود ندارد. افراد بیمار بر اساس نتایج پاتولوژی در دو گروه سرطان معده روده ای (۴۸ نفر-حدود ۶۲ درصد) و سرطان معده منتشر (۲۹ نفر- ۳۸ درصد) تقسیم بندی شدند. لازم به ذکر است گزارش پاتولوژی ۲۳ نفر از بیماران در دسترس نبود.

پس از استخراج DNA از لئوسیت های خون محیطی، به کمک پرایمرهای اختصاصی، قطعه پدربگیرنده VNTR تکثیر شده و محصول PCR بر روی ژل آگارز ۱/۵ درصد الکتروفورز شد. مشاهده باندهایی با سایزهای متفاوت بر روی آگارز نشان دهنده آللهایی با تعداد تکرار های متفاوت در افراد است (شکل ۱).

انواع ژنوتیپ های مشاهده شده و فراوانی آنها در دو گروه بیمار و کنترل در جدول ۱ مشاهده می شود. بیشترین فراوانی ها در جمعیت مورد مطالعه به ترتیب مربوط به ژنوتیپ تکرارهای ۱۲/۱۲ (۵۷ نفر) و ۱۲/۷ (۴۳ نفر) می باشد.

این تحقیق یک مطالعه تحلیلی- مشاهده ای و از نوع مورد-شاهدی گذشته نگر می باشد. جامعه آماری این مطالعه را افراد مبتلا به سرطان معده تشکیل می دهد که توسط پزشک، بیماری های آنها تأیید شده و نمونه خون آنها در دسترس باشد. مبتلایان از افراد مراجعه کننده به بخش پرتودرمانی و شیمی درمانی بیمارستان سیدالشهدا اصفهان بوده اند که از ۱۰۰ بیمار مبتلا به سرطان معده پس از اخذ رضایت نامه، به میزان ۲/۵ سی سی خون وریدی گرفته و درون لوله های CBC حاوی EDTA منتقل شد و سپس به آزمایشگاه انتقال داده شده و تا هنگام استخراج DNA در دمای ۲۰- درجه سانتی گراد نگهداری شد. همچنین فرم پرسشنامه فردی توسط بیمار و به کمک پرونده پزشکی موجود در بایگانی بیمارستان تکمیل شد و این افراد به عنوان گروه بیمار در نظر گرفته شدند. از ۸۸ نفر فرد سالم (بدون هیچگونه سابقه ابتلا به بیماری های گوارشی) اهداکننده خون در سازمان انتقال خون که از لحاظ سن ( $\pm 5$ ) و جنس با گروه بیمار، همسان سازی شده بودند، به عنوان گروه کنترل نمونه خون تهیه و فرم رضایت نامه و پرسشنامه نیز تکمیل گردید. در این مطالعه برای استخراج DNA از کیت Genet BIO کره جنوبی استفاده شده است که اساس آن روش Salting out- است.

برای مشخص کردن تعداد تکرارهای VNTR اینترون ۴ ژن NLRP3 از تکنیک PCR استفاده شد. ابتدا با نرم افزار Oligo نسخه ۷ پرایمرهای اختصاصی پرایمر رفت 5- CAGAGCTTCTTCAGATTGCA-3 و توالی برگشت 5- CTGACCTCCCAATGTGCCTT-3 برای تکثیر ناحیه در برگیرنده این چند شکلی طراحی گردیده و با استفاده از سایت NCBI توالی پرایمرها BLAST گردید تا اختصاص آنها مورد بررسی قرار گیرد و سپس توسط شرکت زیست پیشگامان ایران سنتز شد.

مواد مورد استفاده در واکنش PCR به صورت 3.5  $\mu$ l Master, dH<sub>2</sub>O, 0.5  $\mu$ l DNA(sample), 0.5  $\mu$ l Primer F, 0.5  $\mu$ l Primer R, با حجم نهایی ۱۰ میکرولیتر بود. برنامه PCR در ۲۸ سیکل به صورت ۱ دقیقه در ۹۵ درجه و ۱ دقیقه



شکل ۱: الکتروفورز محصولات PCR بر روی ژل آگارز ۱/۵ درصد. چاهک ۲ ژنوتیپ هموزیگوت ۱۳/۱۳ تکرار (باند ۷۶۲bp)، چاهک‌های شماره ۴۱ ژنوتیپ هتروزیگوت ۱۳/۱۲ تکرار (باندهای ۷۶۲ bp و ۷۲۰bp)، چاهک‌های ۳، ۵، ۷، ۹ و ۱۲ ژنوتیپ هتروزیگوت ۱۲/۱۲ (باند ۷۲۰bp)، چاهک ۶: ژنوتیپ هموزیگوت ۷/۷ تکرار (باند ۵۱۰bp)، چاهک ۱۰ ژنوتیپ هتروزیگوت ۹/۱۲ تکرار (باند ۷۲۰bp و ۵۹۴bp)، چاهک ۱۱ ژنوتیپ ۷/۱۲ تکرار (باند ۷۲۰bp و ۵۱۰bp)، L نشان دهنده مارکر 100bp است.

جدول ۱: انواع ژنوتیپ مشاهده شده و فراوانی آنها در دو گروه بیمار و کنترل به صورت جداگانه

ژنوتیپ	گروه کنترل (%)	گروه بیمار (%)	درصد کل ژنوتیپ (%)
۱۳/۱۳	۵ (۲/۶۵۹)	۲ (۱/۰۶۳)	۷ (۳/۷۲۳)
۱۲/۱۲	۲۱ (۱۱/۱۷۰)	۳۶ (۱۹/۱۴۸)	۵۷ (۳۰/۳۱۹)
۹/۹	۳ (۱/۵۹۵)	۰	۳ (۱/۵۹۵)
۷/۷	۵ (۲/۶۵۹)	۴ (۲/۱۲۷)	۹ (۴/۷۸۷)
۱۲/۱۳	۸ (۴/۲۵۵)	۱۷ (۹/۰۴۲)	۲۵ (۱۳/۲۹۷)
۷/۱۳	۶ (۳/۱۹۱)	۳ (۱/۵۹۵)	۹ (۴/۷۸۶)
۹/۱۲	۷ (۳/۷۲۳)	۱۰ (۵/۳۱۹)	۱۷ (۹/۰۴۲)
۷/۱۲	۲۵ (۱۳/۲۹۷)	۱۸ (۹/۵۷۴)	۴۳ (۲۲/۸۷۲)
۶/۱۲	۱ (۰/۵۳۱)	۴ (۲/۱۲۷)	۵ (۲/۶۵۹)
۷/۹	۵ (۲/۶۵۹)	۲ (۱/۰۶۳)	۷ (۳/۷۲۳)
۹/۱۳	۰	۱ (۰/۵۳۱)	۱ (۰/۵۳۱)
۷/۸	۰	۱ (۰/۵۳۱)	۱ (۰/۵۳۱)
۷/۶	۰	۱ (۰/۵۳۱)	۱ (۰/۵۳۱)
۱۴/۱۲	۱ (۰/۵۳۱)	۱ (۰/۵۳۱)	۲ (۱/۰۶۳)
۱۴/۱۴	۱ (۰/۵۳۱)	۰	۱ (۰/۵۳۱)
فراوانی کل (%)	۸۸ (۴۶/۸۰۸)	۱۰۰ (۵۳/۱۹۱)	۱۸۸ (۱۰۰)

جدول ۲: طبقه‌بندی ژنوتیپ‌ها در سه گروه

ژنوتیپ‌ها	
۱	۱۲/۱۲
۲	۱۴/۱۲، ۶/۱۲، ۷/۱۲، ۹/۱۲، ۱۳/۱۲
۳	۱۴/۱۴، ۷/۶، ۸/۷، ۹/۱۳، ۷/۹، ۷/۱۳، ۷/۷، ۹/۹، ۱۳/۱۳

جدول ۳: ارتباط پلی‌مورفیسم VNTR ژن NLRP3 با خطر ابتلا به سرطان معده

ژنوتیپ	گروه کنترل	گروه بیمار	p value	OR	CI
گروه ۱	۲۱	۳۶	-	۱	-
گروه ۲	۴۲	۵۰	۰/۲۹	۰/۶۹	۰/۳۵-۱/۳۶
گروه ۳	۲۵	۱۴	۰/۰۱	۰/۳۲	۰/۱۴-۰/۷۶
گروه ۲ + ۳	۶۷	۶۴	۰/۰۷	۰/۵۵	۰/۲۹-۱/۰۵

(value=).

### بحث و نتیجه‌گیری

امروزه نقش التهاب در شروع، ادامه و پیشرفت تومور مورد توافق اکثر دانشمندان می‌باشد. برای پاسخ مناسب سیستم ایمنی ذاتی در برابر پاتوژن‌ها و آسیب‌های محیطی در دستگاه گوارش، پردازش و آزاد شدن سیتوکاین‌های پیش التهابی مثل اینترلوکین ۱ بتا و اینترلوکین ۱۸ حیاتی است. مشخص شده اینترلوکین ۱ بتا در انواع سرطان‌ها از جمله سرطان معده نقش مهمی دارد. در بسیاری از موارد پردازش اینترلوکین ۱ بتا و اینترلوکین ۱۸ وابسته به پروتئین NLRP3 است. زیرا NLRP3 از اجزای کمپلکس inflammasome بوده و این کمپلکس با پردازش پروکاسپاز یک، آن را فعال کرده و در ادامه کاسپاز یک فعال با برش پیش‌سازهای اینترلوکین ۱ بتا و اینترلوکین ۱۸ این سیتوکاین‌ها را فعال می‌کند<sup>۱۳</sup>. به دنبال فعال شدن اینترلوکین ۱ بتا و اتصال به گیرنده خود، NF-κB فعال شده و مسیر سیگنالینگ JNK راه اندازی می‌شود که منجر به تکثیر، حمله و توسعه سرطان می‌شود<sup>۱۴</sup>. همچنین نشان داده شده است که مهار NLRP3 در ماکروفاژها به واسطه کاهش اینترلوکین ۱ بتا، پتانسیل متاستاز را در سلول‌های توموری کاهش می‌دهد<sup>۱۵</sup>. مطالعات نشان می‌دهد که چندشکلی‌های ژن‌های کدکننده اعضای مختلف کمپلکس inflammasome می‌تواند در انواع سرطان‌ها نقش داشته باشد<sup>۱۶</sup>.

در این مطالعه آلل ۱۲ تکرار شایع‌ترین آلل می‌باشد و با توجه به اینکه فراوانی بسیاری از ژنوتیپ‌ها کم می‌باشد، ژنوتیپ هموزیگوت ۱۲/۱۲ در یک گروه (ژنوتیپ هموزیگوت برای آلل ۱۲ تکرار) و ژنوتیپ‌هایی که حداقل دارای یک آلل ۱۲ تکرار بودند در یک گروه (ژنوتیپ هتروزیگوت) و سایر ژنوتیپ‌ها در گروه سوم (ژنوتیپ‌های فاقد آلل ۱۲) قرار گرفته (جدول ۲) و سپس داده‌ها تجزیه و تحلیل شدند.

با در نظر گرفتن ژنوتیپ ۱۲/۱۲ به عنوان ژنوتیپ مرجع، ژنوتیپ‌های فاقد آلل ۱۲ (گروه سوم جدول ۲) خطر ابتلا به سرطان معده را به طور معنی‌داری کاهش می‌دهند ( $P=0/01$ ,  $OR=0/32$ ,  $CI=0/14-0/76$ ). همچنین آنالیز مجموع ژنوتیپ‌های گروه‌های ۲ و ۳ در مقایسه با گروه یک، نشان داد که آلل ۱۲ تکرار به صورت مغلوب خطر ابتلا به سرطان معده را به طور معنی‌داری کاهش می‌دهد ( $P=0/07$ ,  $OR=0/55$ ,  $CI=0/29-1/05$ ).

ارتباط پلی‌مورفیسم VNTR ژن NLRP3 با خطر ابتلا به سرطان معده در دو جنس به صورت جداگانه نیز بررسی گردید و نتایج این بررسی نشان داد که این پلی‌مورفیسم با خطر ابتلا به سرطان معده با جنسیت (در زنان  $p\text{ value}=0/06$  و در مردان  $p\text{ value}=0/08$ ) ارتباط معنی‌داری ندارد.

همچنین بررسی‌ها نشان داد که پلی‌مورفیسم VNTR ژن NLRP3 با نوع سرطان معده نیز ارتباط معنی‌داری ندارد ( $p=0/07$ ).

تکرار و ژنوتیپ ۱۲/۱۲ در هر دو گروه بیمار و کنترل بیشترین فراوانی را داشته است. در این مطالعه برای اولین بار آلل ۱۴ تکرار در این چندشکلی گزارش شده است.

همچنین این مطالعه نشان داد که ژنوتیپ هموزیگوت ۱۲/۱۲ در مقایسه با سایر ژنوتیپ‌ها استعداد ابتلا به سرطان معده را افزایش می‌دهد و همراستا با نتایج حاصل از مطالعات قبلی<sup>۱۸،۱۲</sup> نشان می‌دهد این چندشکلی در استعداد ابتلا به بیماری نقش دارد اگرچه تاکنون در سرطان‌ها بررسی نشده است. با توجه به بیان بیشتر آلل ۱۲ تکرار در مقایسه با سایر آلل‌ها<sup>۱۸</sup> و نقش پروتئین NLRP3 در ایجاد التهاب و افزایش تکثیر سلول‌های سرطانی<sup>۱۷</sup> نتایج حاصل منطقی به نظر می‌رسد. پیشنهاد می‌شود که در مطالعات با جامعه آماری بزرگتر ارتباط این چندشکلی با انواع سرطان‌ها مورد بررسی قرار گیرد تا در صورت تأیید بتوان از آن به به‌عنوان یک شاخص در غربالگری افراد مستعد ابتلا به سرطان بهره جست.

مطالعات نشان داده است که NLRP3 هم از طریق کمپلکس inflammasome و هم به صورت جداگانه می‌تواند تکثیر سلول‌های سرطانی را افزایش دهد و باعث سرطان معده گردد<sup>۱۷</sup>.

چندشکلی rs74163773 ژن NLRP3 در ۲۷۰ بیمار مبتلا به recurrent vulvovaginal candidosis (RVVC) (بیماری عفونی ناحیه تناسلی زنان) از چندین بیمارستان در هلند، ایتالیا و فرانسه و ۵۸۳ فرد سالم بررسی شد. در این مطالعه مجموعاً ۸ ژنوتیپ و ۵ آلل از این چندشکلی گزارش شد که در هر دو گروه بیشترین فراوانی مربوط به ژنوتیپ ۱۲/۱۲ تکرار و کمترین مربوط به ژنوتیپ‌های ۷/۱۲، ۷/۱۲، ۹/۱۲ و ۷/۷ تکرار بوده است. نتایج این مطالعه نشان داد که ژنوتیپ ۹/۱۲ تکرار خطر ابتلا به بیماری RVVC را افزایش می‌دهد<sup>۱۸</sup>. همچنین در یک مطالعه در ژاپن مشخص شد که ژنوتیپ ۱۲/۱۲ تکرار چندشکلی ژن NLRP3 با خطر ابتلا به افزایش فشار خون همراه است<sup>۱۲</sup>.

در مطالعه حاضر، همراستا با گزارشات مطالعات پیشین<sup>۱۸</sup> آلل ۱۲

## References

- Malekzadeh R. Gastric Cancer in Iran: Epidemiology and Risk Factors. Arch Iran Med. 2009; 12(6):576-583.
- Inoue M, Tsugane S. Epidemiology of gastric cancer in Japan. Postgrad Med J. 2005; 81 (957): 419-24.
- Lichtenstein P, Holm NV, Verkasalo PK, Iliadou A, Kaprio J, Koskenvuo M, et al. Environmental and heritable factors in the causation of cancer-analyses of cohorts of twins from Sweden, Denmark, and Finland. N Engl J Med 2000; 343.
- Zendejdel K, Marzban M, Nahvijou A, Jafari N, Six-fold Difference in the stomach Mortality Rate between Northern and Southern Iran
- Kwon SJ. Evaluation of the 7th UICC TNM Staging System of Gastric Cancer. J Gastric Cancer 2011; 11 (2): 78-85.
- Kim BC, Kim WY, SNP@Promoter: a database of human SNPs Within the putative promoter regions. BMC Bioinformatics. 2008.12:57
- Örd T, Puurand T, Örd D, Annilo T, Möls M, Remm M, et al. A human-specific VNTR in the TRIB3 promoter causes gene expression variation between individuals. PLoS genetics. 2020;16(8):e1008981.
- Ghavidel M, Mansury D, Nourian K, Ghazvini K. The most common spoligotype of Mycobacterium bovis isolated in the world and the recommended loci for VNTR typing; A systematic review. Microbial pathogenesis 2018;118:310-5.
- Hoffman HM, Mueller JL, Broide DH, Wanderer AA, Kolodner RD. Mutation of a new gene encoding a putative pyrin-like protein causes familial cold autoinflammatory syndrome and Muckle-Wells syndrome. Nat Genet 2001; 29:301-5.
- Mathews RJ, Sprakes MB, McDermott MF. NOD-like receptors and inflammation. Arthritis Res Ther 2009; 10(6):228.
- Chi-Jung Chung, Bo-Ying Bao, Polymorphism of nucleotide binding domain-like receptor protein 3 (NLRP3) increases susceptibility of total urinary arsenic to renal cell carcinoma. 2020 Apr 20; 10(1):6640.
- Toshinori Omi, Maki Kumada, An intronic variable number of tandem repeat polymorphisms of the cold-induced autoinflammatory syndrome 1 (CIAS1) gene modifies gene expression and is associated with essential hypertension. 2006 Dec;14(12):1295-305.
- Allen I.C., TeKippe E., Woodford R.M.T., Uronis J.M., Holl E.K, Rogers A.B, et al. The NLRP3 inflammasome functions as a negative regulator of tumorigenesis during colitis-associated cancer. J Exp Med. 2010; 207(5):1045-56.
- Moossavi M., Parsamanesh N., Bahrami A., Atkin

- S.L., Sahebkar A. Role of the NLRP3 inflammasome in cancer. *Mol Cancer* 2018; 17(1):158.
15. Lee, H.E., Lee, J.Y., Yang, G. et al. Inhibition of NLRP3 inflammasome in tumor microenvironment leads to suppression of metastatic potential of cancer cells. *Sci Rep* 2019; 9:12277.
16. Li L, Hong Z. IL-1 $\beta$ /NF-kb signaling promotes colorectal cancer cell growth through miR-181a/PTEN axis. *Arch Biochem Biophys*. 2016; 604:20–6.
17. S Li 1, X Liang 1, L Ma 1, L Shen 1, T Li 1, L Zheng 1, et al. MiR-22 sustains NLRP3 expression and attenuates H. pylori-induced gastric carcinogenesis. *Oncogene* 2018; 37(7):884-896.
18. M Jaeger, A Carvalho, Association of a variable number tandem repeat in the NLRP3 gene in women with susceptibility to RVVC. 2016; 35(5):797-801.

Fayez khosravi <sup>1</sup>, Parisa Mohamadynejad <sup>1\*</sup>, Mehdi moghanibashi <sup>2</sup>

<sup>1</sup> Department of Biology, Faculty of Basic Sciences, Shahrekord Branch, Islamic Azad University, Shahrekord, Iran.

<sup>2</sup> Department of Genetic, Faculty of Medicine, Kazerun Branch, Islamic Azad University, Kazerun, Iran.

## Association of VNTR Polymorphism of NLRP3 Gene With the Risk of Gastric Cancer

Received: 8 Aug 2021 ; Accepted: 26 Aug 2022

### Abstract

**Background and aim:** Gastric cancer is one of the most common cancers in the world, including Iran, which has a high mortality rate. One of the effective factors in the development of gastric cancer is the increase in inflammation caused by the increase in the function of the cryopyrin protein, which is encoded by the NLRP3 gene in humans. Increased expression of this gene leads to the production of IL-1 $\beta$  and IL-18 cytokines and increases inflammation. Considering the important role of NLRP3 gene, in this study, the role of VNTR polymorphism in intron 4 of NLRP3 gene in susceptibility to gastric cancer was investigated.

**Materials and Methods:** In this study, VNTR polymorphism of NLRP3 gene was genotyped in 100 patients with gastric cancer and 88 healthy individuals by PCR technique. The obtained data were analyzed using SPSS v21 software and logistic regression test.

**Results:** In this study, 15 different genotypes and 7 alleles were identified in the VNTR polymorphism of NLRP3 gene, of which 12 replicate alleles and 12.12 genotypes were the most frequency. Also, allele with 14 repeat were identified for the first time. Analysis of the results showed that genotype 12.12 increase the risk of gastric cancer compared with other genotypes (p value = 0.01, CI = 0.14 - 0.76, OR = 0.32).

**Conclusion:** It seems that genotype 12.12 in the intron 4 of NLRP3 gene increased the risk of gastric cancer.

**Keywords:** Gastric cancer, VNTR polymorphism, NLRP3 gene

### \*Corresponding Author:

Department of Biology, Faculty of Basic Sciences, Shahrekord Branch, Islamic Azad University, Shahrekord, Iran.

Tel: 09133191269  
E-mail: parisa\_mohamadynejad@yahoo.com