

ارتباط چندشکلی VNTR ژن NLRP3 با خطر ابتلا به سرطان معده

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

فایز خسروی^۱، پریسا محمدی نژاد^{۲*}،
محمد مهدی مغنی باشی^۳

^۱ کارشناسی ارشد، گروه زیست‌شناسی، دانشکده علوم پایه، واحد شهرکرد، دانشگاه آزاد اسلامی، شهرکرد، ایران

^۲ استادیار، گروه زیست‌شناسی، دانشکده علوم پایه، واحد شهرکرد، دانشگاه آزاد اسلامی، شهرکرد، ایران

^۳ استادیار، گروه زیست‌شناسی، دانشکده پزشکی، واحد کازرون، دانشگاه آزاد اسلامی، کازرون، ایران

چکیده

زمینه و هدف: سرطان معده یکی از سرطان‌های شایع در سراسر جهان از جمله ایران می‌باشد که مرگ و میر بالای 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 سایتوکاین‌های IL-1 β 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 ژنتیپ گردید. داده‌های به دست آمده با نرم‌افزار SPSS v21 و آزمون رگرسیون لجستیک آنالیز شدند. یافته‌ها: در این مطالعه ۱۵ نوع ژنتیپ مختلف و ۷ نوع آلل در پلی‌مورفیسم VNTR ژن NLRP3 شناسایی شد که آلل ۱۲ تکرار و ژنتیپ ۱۲/۱۲ بیشترین فراوانی را به خود اختصاص داد. همچنین برای اولین بار آلل ۱۴ تکرار شناسایی گردید. آنالیز نتایج نشان داد که ژنتیپ ۱۲/۱۲ در مقایسه با سایر ژنتیپ خطر ابتلا به سرطان معده را افزایش می‌دهد ($p = 0.01$, $OR = 0.32$, $CI = 0.14 - 0.76$, $value =$).

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

کلمات کلیدی: سرطان معده، چندشکلی VNTR، ژن NLRP3

نویسنده مسئول:

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

۰۹۱۳۳۱۹۱۲۶۹
Email:parisa_mohamadynejad@yahoo.com

مقدمه

توالی‌های 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 می‌شوند.^۸ چندشکلی‌های ژنتیکی در نواحی اگزونی، ایترنونی و همچنین در نواحی تنظیم کننده مانند پروموتور قرار گرفته‌اند که می‌توانند نقش عملکردی داشته و باعث پاسخ‌های متفاوت افراد به عوامل محیطی یکسان شود بدین ترتیب حضور این چندشکلی‌ها استعداد افراد در ابتلا به بیماری‌های چند عاملی از جمله سرطان‌ها را تحت تاثیر قرار می‌دهند.^{۹-۱۰}

التهاب با افزایش ناپایداری ژنومی از جمله جهش‌های انکوژنی و همچنین تغییر در پاسخ ایمنی می‌تواند باعث افزایش تومورزاوی 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 می‌شود. کاسپاز یک نیز باعث ایجاد شکل فعال بیولوژیک ایترلوکین ۱ بتا و ایترلوکین ۱۸ شده و در نهایت التهاب را به همراه خواهد داشت.^{۱۱-۱۲}

ژن NLRP3 دارای ۱۱ اگزون بوده و بر روی کروموزوم ۱ قرار گرفته (1q44) و کدکننده پروتئینی به نام Cryopyrin می‌باشد. این ژن متعلق به یک خانواده از ژن‌هایی است که پروتئین‌هایی واجد موتیف ساختاری ۹۰ آسید آمینه‌ای به نام pyrin (PYD) کد می‌کنند. واریانت‌های ژن NLRP3 ممکن است پایداری mRNA این ژن و بیان آن را تحت تاثیر قرار دهد. یکی از این واریانت‌ها یک VNTR ۴۲ جفت بازی (rs74163773) در ایترون ۴ ژن NLRP3 می‌باشد که در جمعیت‌های مختلف نوع آلی از آن مشاهده شده است و تاکنون آلل‌های ۶، ۷، ۹، ۱۲ و ۱۳ تکرار گزارش شده است.^{۱۲} همچنین مشخص شده است که بیان آلل ۱۲ تکرار بیشتر از آلل‌های ۶، ۷ و ۹ تکرار است.^{۱۳}

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

مواد و روش‌ها

سرطان در کشورهای توسعه‌یافته و در حال توسعه به ترتیب اولین و دومین عامل مرگ می‌باشد. سرطان معده در جهان به عنوان چهارمین سرطان شایع و دومین عامل مرگ برای سرطان شناخته می‌شود.^۱ براساس آمار سال ۲۰۰۵ بیشترین موارد این سرطان در کشورهای ژاپن، چین و روسیه مشاهده شده و کمترین موارد آن نیز مربوط به کشورهای توسعه‌یافته غربی می‌باشد.^۲ همان‌طور که از این داده‌ها استنباط می‌شود، شیوع سرطان معده در جمیعت‌های مختلف تفاوت قابل توجهی دارد که دو دلیل عمدۀ برای آن ذکر می‌گردد: 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 مرگ‌ومیر ناشی از آن متفاوت است و پدیده دوم بیشتر به علت تشخیص دیرهنگام سرطان معده در فاز پیشرفتۀ بیماری می‌باشد.^۳ سرطان می‌تواند به صورت تک‌گیر (Sporadic) ایجاد گردد و یا منشأ ارضی داشته باشد و در خانواده‌ها تکرار شود. حدود ۱۰ درصد موارد این سرطان ارضی می‌باشد. در ایران ۵۰ درصد سرطان‌های شایع کشور مربوط به دستگاه گوارش است و از بین سرطان‌های دستگاه گوارش، سرطان معده از همه شایع‌تر است و میزان مرگ و میر بسیار بالایی به خصوص در مناطق شمال غرب کشور نشان می‌دهد و هرچه به سمت جنوب می‌رویم میزان مرگ‌ومیر سرطان معده کاهش می‌یابد.^۴ در مورد عوامل خطر محیطی ایجاد سرطان معده می‌توان به نقش عفونت هلیکوبکترپیلوری (*Helicobacter pylori*، سبک زندگی و تغذیه اشاره نمود؛ عوامل ژنتیکی مرتبط با این سرطان هم عبارت‌اند از جهش‌ها و چندشکلی‌ها^۵.

اگرچه بیش از ۹۹ درصد توالی DNA انسان در همه جمیعت‌ها 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 می‌باشد که این تفاوت‌های ژنتیکی را چندشکلی می‌گویند. وجود میلیون‌ها چندشکلی در ژنوم انسان، باعث تنوّع ژنتیکی وسیعی بین انسان‌ها شده است.^۶ پلی‌مورفیسم‌ها به دو دسته‌ی مارکرهای دو آلی مثل چندشکلی‌های تک نوکلئوتیدی (SNP) و مارکرهای چند آلی مثل تکرارهای پشت سرهم با تعداد متغیر (VNTR) تقسیم می‌شوند.^۶

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 ژنتوتیپ افراد، محصولات PCR بر روی ژل اگارز 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 ایترنون 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 (۵± 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 $53/20 \pm 13/60$ 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 متشر (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 لنفوسيت های خون محیطی، به کمک پرایمرهای اختصاصی، قطعه پدربرگیرنده VNTR تکثیر شده و محصول PCR بر روی ژل اگارز ۱/۵ درصد الکتروفورز شد. مشاهده باندهایی با سایزهای مختلف بر روی آگارز نشان دهنده آل هایی با تعداد تکرار های مختلف در افراد است (شکل ۱). انواع ژنتوتیپ 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 ژنتوتیپ تکرارهای ۱۲/۱۲ (۵۷ نفر) و ۱۲/۷ (۴۳ نفر) می باشد.

این تحقیق یک مطالعه تحلیلی - مشاهده ای و از نوع مورد - شاهدی گذشتمنگر 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 پرتو درمانی 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 و ریدی 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 هیچ گونه سابقه ابتلا به بیماری های گوارشی) اهدا کننده خون در سازمان انتقال خون که از لحاظ سن (± 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 Genet BIO از کیت DNA کره جنوبی استفاده شده است که اساس آن روش Salting out است.

برای مشخص کردن تعداد تکرارهای VNTR ایترنون ۴ ژن NLRP3 از تکنیک PCR استفاده شد. ابتدا با نرم افزار Oligo نسخه ۷ پرایمرهای اختصاصی پرایمر رفت ۵- CAGAGCTTCTTCAGATTGCA-3 و توالی برگشت ۵- CTGACCTCCAAATGTGCCCTT-3 برای تکثیر ناحیه در برگیرنده این چند شکلی طراحی گردید و با استفاده از سایت NCBI توالی پرایمرها BLAST گردید تا اختصاص آنها مورد بررسی قرار گیرد و سپس توسط شرکت زیست پیشگامان ایران ستز شد.

مواد مورد استفاده در واکنش PCR به صورت ۳.۵ μl ۰.۵ μl Primer F. ۰.۵ μl DNA(sample). ۰.۵ μl Master dH₂O ۰.۵ μl Primer R. ۰.۵ μl با حجم نهایی ۱۰ میکرولیتر بود. برنامه PCR در ۲۸ سیکل به صورت ۱ دقیقه در ۹۵ درجه و ۱ دقیقه



شکل ۱: الکتروفروز محصولات PCR بر روی ژل اگارز ۱/۵ درصد. چاهک ۲ ژنوتیپ هموزیگوت ۱۳/۱۳ تکرار (باند ۷۶۲bp)، چاهک‌های شماره ۴۱ ژنوتیپ هتروزیگوت ۱۳/۱۲ تکرار (باندهای ۷۶۲ و ۷۲۰ bp)، چاهک‌های ۳، ۵، ۷، ۹ و ۱۲ ژنوتیپ هتروزیگوت ۱۲/۱۲ (باند ۷۲۰bp)، چاهک ۶: ژنوتیپ هموزیگوت ۷/۷ تکرار (باند ۵۱۰ bp)، چاهک ۱۰ ژنوتیپ هتروزیگوت ۹/۱۲ تکرار (باند ۷۲۰bp و ۵۹۴bp)، چاهک ۱۱ ژنوتیپ ۷/۱۲ تکرار (باند ۵۱۰ و ۷۲۰ bp)، 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 (%)	فرابنده کل (%)	گروه کنترل (%)	گروه بیمار (%)	درصد کل ژنوتیپ (%)
۱۳/۱۳	۷	(۲/۶۵۹) ۵	(۱/۰۶۳) ۲	(۳/۷۲۳) ۷
۱۲/۱۲	۵۷	(۱۱/۱۷۰) ۲۱	(۱۹/۱۴۸) ۳۶	(۳۰/۳۱۹) ۵۷
۹/۹	۰	(۱/۰۹۵) ۳	•	(۱/۵۹۵) ۳
۷/۷	۴	(۲/۶۵۹) ۵	(۲/۱۲۷) ۴	(۴/۷۸۷) ۹
۱۲/۱۳	۱۷	(۴/۲۵۵) ۸	(۹/۰۴۲) ۱۷	(۱۳/۲۹۷) ۲۵
۷/۱۳	۶	(۳/۱۹۱) ۶	(۱/۰۹۵) ۳	(۴/۷۸۶) ۹
۹/۱۲	۷	(۳/۷۲۳) ۷	(۵/۳۱۹) ۱۰	(۹/۰۴۲) ۱۷
۷/۱۲	۲۵	(۱۳/۲۹۷) ۲۵	(۹/۵۷۴) ۱۸	(۲۲/۸۷۲) ۴۳
۶/۱۲	۱	(۰/۰۵۳۱) ۱	(۲/۱۲۷) ۴	(۲/۶۵۹) ۵
۷/۹	۵	(۲/۶۵۹) ۵	(۱/۰۶۳) ۲	(۳/۷۲۳) ۷
۹/۱۳	۰	•	(۰/۰۵۳۱) ۱	(۰/۰۵۳۱) ۱
۷/۸	۰	•	(۰/۰۵۳۱) ۱	(۰/۰۵۳۱) ۱
۷/۶	۰	•	(۰/۰۵۳۱) ۱	(۰/۰۵۳۱) ۱
۱۴/۱۲	۱	(۰/۰۵۳۱) ۱	(۰/۰۵۳۱) ۱	(۱/۰۶۳) ۲
۱۴/۱۴	۱	(۰/۰۵۳۱) ۱	•	(۰/۰۵۳۱) ۱
۱۴/۱۴	۸۸	(۴۶/۸۰۸) ۸۸	(۵۳/۱۹۱) ۱۰۰	(۱۰۰) ۱۸۸
فراوانی کل (%)				

جدول ۲: طبقه‌بندی ژنوتیپ‌ها در سه گروه

ژنوتیپ‌ها	
۱	۱۲/۱۲
۲	۱۴/۱۲، 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 ۳ + ۲	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 پیش‌التهابی مثل ایترولوکین ۱ بتا و ایترولوکین ۱۸ حیاتی است. مشخص شده ایترولوکین ۱ بتا در انواع سرطان‌ها از جمله سرطان معده نقش مهمی دارد. در بسیاری از موارد پردازش ایترولوکین ۱ بتا و ایترولوکین ۱۸ وابسته به پروتئین NLRP3 inflammasome 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 ایترولوکین ۱ بتا و ایترولوکین ۱۸ این سایتوکاین‌ها را فعال می‌کند.^{۱۳} به دنبال فعال شدن ایترولوکین 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.^{۱۴} همچنین نشان داده شده است که مهار NLRP3 در ماکروفازها به واسطه کاهش ایترولوکین ۱ بتا، پتانسیل متاستاز را در سلول‌های توموری کاهش می‌دهد.^{۱۵} مطالعات نشان می‌دهد که چندشکلی‌های ژن های کدکننده اعضای مختلف کمپلکس inflammasome می‌تواند در انواع سرطان‌ها نقش داشته باشد.^{۱۶}

در این مطالعه آلل ۱۲ تکرار شایعترین آلل می‌باشد و با توجه به اینکه فراوانی بسیاری از ژنوتیپ‌ها کم می‌باشد، ژنوتیپ هموژیگوت ۱۲/۱۲ در یک گروه (ژنوتیپ هموژیگوت برای آلل ۱۲ تکرار) و ژنوتیپ‌هایی که حداقل دارای یک آلل ۱۲ تکرار بودند در یک گروه (ژنوتیپ هتروژیگوت) 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 ($P=0/01$ ، $CI=0/076$)، 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 ($P=0/05$ ، $CI=0/29$) (OR=۰/۵۵).

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 $p value=0/06$ و در مردان $p value=0/08$) 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^{۱۸,۱۹} 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^{۱۸} و نقش پروتئین NLRP3 در ایجاد التهاب و افزایش تکثیر سلول‌های سرطانی^{۱۷} نتایج حاصل منطقی به نظر می‌رسد. پیشنهاد می‌شود که در مطالعات با جامعه‌آماری بزرگتر ارتباط این چندشکلی با انواع سرطان‌ها مورد بررسی قرار گیرد تا در صورت تائید بتوان از آن به معنوان یک شاخص در غربالگری افراد مستعد ابتلا به سرطان بهره جست.

مطالعات نشان داده است که N LRP3 هم از طریق کمپلکس inflammasome و هم به صورت جداگانه می‌تواند تکثیر سلول‌های سرطانی را افزایش دهد و باعث سرطان معده گردد.^{۱۷} 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 ۹/۱۲، ۷/۱۲ و ۹/۱۲ تکرار بوده است. نتایج این مطالعه نشان داد که ژنوتیپ ۹/۱۲ تکرار خطر ابتلا به بیماری RVVC را افزایش می‌دهد^{۱۸}. 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.^{۱۲}

در مطالعه حاضر، همراستا با گزارشات مطالعات پیشین^{۱۸} 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.
- Zendehdel 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 β /NF- κ b 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 khosravi¹, Parisa Mohamadynejad^{1*}, Mehdi moghanibashi²

¹ Department of Biology,
Faculty of Basic Sciences,
Shahrekord Branch, Islamic
Azad University, Shahrekord,
Iran.

² 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 β 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