

Relationship between DNMT1 gene's SNPs and colorectal cancer at Taleghani Hospital in Tehran

M. Alipour-Heidari* H. Alavimajd** E. Hajizadeh*** K. Azam**** MR. Zali*****

*Instructor of Biostatistics, Qazvin University of Medical Sciences, Qazvin and PhD Student of Biostatistics, Tarbiat Modares University, Tehran, Iran

**Associate Professor of Biostatistics, Shahid Beheshti University of Medical Sciences, Tehran, Iran

***Associate Professor of Biostatistics, Tarbiat Modares University, Tehran, Iran

****Assistant Professor of Biostatistics, Tehran University of Medical Sciences, Tehran, Iran

***** Professor of Gastroenterology, Shahid Beheshti University of Medical Sciences, Tehran, Iran

*Abstract

Background: The relation between Single Nucleotide Polymorphisms (SNPs) and a number of diseases has triggered many researches.

Objective: Investigating the possible relations between SNPs present in DNMT1 gene from man's chromosome 19 and colorectal cancer.

Methods: This was a case/control study in which 100 patients with colorectal cancer, referred to Research Center of Gastroenterology and Liver Diseases of Shaheed Beheshti Medical University during 2008, were chosen as case group. The control group included an equal number of patients who visited the medical center for a variety of reasons. Genetic test was carried out on all patients to determine the type of 6 SNPs of DNMT1 gene from man's chromosome 19. Data were statistically analyzed by SPSS software using chi-square test and logistic regression.

Findings: All SNPs investigated showed significant relations with colorectal cancer indicating that in all cases the chance of getting colorectal cancer in people with genotype 1 and 2 was much higher than those with genotype 0.

Conclusion: By exploring people's SNPs, it is feasible to predict the risk of catching colorectal cancer and thus establishing proper preventive measures.

Keywords: SNP, Colorectal Cancer, DNMT1 Gene, Chromosome 19 Gene Stubs, Logistic Regression, Odds Ratio

Corresponding Author: Mahmood Alipour Heidari, Department of Biostatistics, Faculty of Medicine, Tarbiat Modares University, Tehran, Iran

Tel: +98- 9124799673

Email: malipour@modares.ac.ir

Received: 29 April 2010

Accepted: 18 Jan 2011

ارتباط بین تک نوکلئوتیدهای چند شکلی ژن DNMT1 با سرطان روده بزرگ در بیماران مراجعه‌کننده به بیمارستان طالقانی تهران

محمود علیپورحیدری* دکتر حمید علوی مجد** دکتر ابراهیم حاجی زاده*** دکتر کمال اعظم**** دکتر محمد رضا زالی*****

* مربی و عضو هیأت علمی گروه آمار دانشگاه علوم پزشکی قزوین و دانشجوی دکتری آمار زیستی دانشگاه تربیت مدرس
** دانشیار گروه آمار زیستی دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی
*** دانشیار گروه آمار زیستی دانشگاه تربیت مدرس
**** استادیار گروه آمار زیستی و اپیدمیولوژی دانشکده بهداشت دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی درمانی تهران
***** استاد و فوق تخصص گوارش دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی

آدرس نویسنده مسؤول: تهران، دانشگاه تربیت مدرس، دانشکده علوم پزشکی، گروه آمار زیستی، تلفن ۸۲۸۸۳۸۷۲-۰۲۱، ۰۹۱۳۴۷۹۹۶۷۳

E-mail: malipour@modares.ac.ir

تاریخ دریافت: ۸۹/۲/۹ تاریخ پذیرش: ۸۹/۱۰/۲۸

* چکیده

زمینه: ارتباط بین تک نوکلئوتیدهای چند شکلی (SNPها) با برخی از بیماری‌ها دغدغه بسیاری از محققین است.
هدف: مطالعه به منظور تعیین ارتباط بین SNPهای موجود در ژن DNMT1 [دی ان ای (سیتوزین-5) متیل 1] از کروموزوم ۱۹ انسان با سرطان روده بزرگ انجام شد.
مواد و روش‌ها: در این مطالعه مورد-شاهدی، ۱۰۰ بیمار مبتلا به سرطان روده بزرگ، مراجعه‌کننده به مرکز تحقیقات بیماری‌های گوارش و کبد دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی در سال ۱۳۸۷ به عنوان گروه مورد و ۱۰۰ نفر از سایر بیماران مراجعه‌کننده به این مرکز، به عنوان گروه شاهد انتخاب شدند. آزمایش ژنتیک، جهت تعیین ژنوتیپ ۶ مورد SNP از ژن DNMT1 از کروموزوم ۱۹ انسان برای این بیماران در آزمایشگاه این مرکز انجام شد. داده‌ها با آزمون‌های آماری مجذورکای و رگرسیون لجستیک تحلیل شدند.
یافته‌ها: تمام SNPهای مورد بررسی با سرطان روده بزرگ، رابطه معنی‌داری نشان دادند. در تمام آن‌ها شانس ابتلا به سرطان روده بزرگ در افراد با ژنوتیپ ۱ یا ۲، چندین برابر افراد با ژنوتیپ صفر بود.
نتیجه‌گیری: می‌توان با شناسایی SNPهای افراد، میزان خطر ابتلا به بیماری سرطان روده بزرگ را پیش‌بینی نمود و جهت پیشگیری از ابتلای آنان، اقدام لازم را انجام داد.

کلیدواژه‌ها: SNP، سرطان روده بزرگ، ژن DNMT1، کروموزوم ۱۹ انسان، رگرسیون لجستیک، نسبت شانس‌ها

* مقدمه

تک نوکلئوتیدهای چندشکلی (SNPها)، تغییراتی در DNA هستند که از تغییر در یک نوکلئوتید ایجاد می‌شوند. برای این که یک تغییر به عنوان SNP در نظر گرفته شود باید حداقل در یک درصد جمعیت وجود داشته باشد. SNPها حدود ۹۰ درصد از تمام تغییرات ژنتیکی انسان را شامل می‌شوند و به طور متوسط در هر ۱۰۰ تا ۳۰۰ باز اتفاق می‌افتند. دو سوم از SNPها از تغییر تیمین به سیتوزین ایجاد می‌شوند. SNPها می‌توانند در مناطق coding (ژن‌ها) و noncoding (غیر ژن‌ها) وجود داشته باشند.^(۱-۳)

بسیاری از SNPها تأثیری بر عملکرد سلول ندارند، ولی برخی از آن‌ها می‌توانند فرد را مستعد ابتلا به بیماری کنند یا پاسخ به درمان آن‌ها را تحت تأثیر قرار دهند. اگر چه بیش از ۹۹ درصد DNA انسان در میان جمعیت یکسان است؛ تغییر در DNA می‌تواند تأثیر بزرگی بر پاسخ انسان به بیماری، تهاجم خارجی مانند باکتری‌ها، ویروس‌ها، سموم و مواد شیمیایی و درمان‌ها داشته باشد.^(۴) به همین علت، SNPها در تحقیقات زیست فن‌آوری پزشکی و

تک نوکلئوتیدهای چندشکلی (SNPها)، تغییراتی در DNA هستند که از تغییر در یک نوکلئوتید ایجاد می‌شوند. برای این که یک تغییر به عنوان SNP در نظر گرفته شود باید حداقل در یک درصد جمعیت وجود داشته باشد. SNPها حدود ۹۰ درصد از تمام تغییرات ژنتیکی انسان را شامل می‌شوند و به طور متوسط در هر ۱۰۰ تا ۳۰۰ باز اتفاق می‌افتند. دو سوم از SNPها از تغییر تیمین به سیتوزین ایجاد می‌شوند. SNPها می‌توانند در مناطق coding (ژن‌ها) و noncoding (غیر ژن‌ها) وجود داشته باشند.

این سرطان به طور معمول به وسیله کولونوسکوپی تشخیص داده می‌شوند.

سرطان‌های فعال که داخل دیواره‌های روده بزرگ محدود شده‌اند (مرحله اول و دوم TNM) به وسیله عمل جراحی قابل درمان هستند. در صورتی که این بیماری در این مرحله درمان نشود، آن‌ها در غدد لنفاوی همان منطقه منتشر می‌شوند (مرحله سوم) که در این مرحله حدود ۷۰ درصد امکان درمان از طریق جراحی و شیمی‌درمانی وجود دارد. سرطان‌هایی که به نواحی دورتر گسترش پیدا می‌کنند (مرحله چهارم) معمولاً قابل درمان نیستند، اگرچه شیمی‌درمانی می‌تواند طول عمر را افزایش دهد و در موارد نادر انجام همزمان عمل جراحی و شیمی‌درمانی، به درمان بیماران منجر شده‌است. پرتوافشانی نیز برای درمان سرطان‌های راست‌روده به کار می‌رود.^(۱۱)

لذا، این مطالعه به منظور تعیین ارتباط بین SNP های _____ و _____ [DNMT1 (DNA (cytosine-5)-methyltransferase 1] از کروموزوم ۱۹ انسان با سرطان روده بزرگ انجام شد.

* مواد و روش‌ها:

در این مطالعه مورد-شاهدی تعداد ۶ مورد SNP از DNMT1 از کروموزوم ۱۹ انسان (rs61750053، rs62621087، rs16999358، rs61750052، rs16999593 و rs2228613) در دو گروه بررسی شدند. این دو گروه، بیماران مراجعه کننده به مرکز تحقیقات بیماری‌های گوارش و کبد دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی در سال ۱۳۸۷ بودند. گروه مورد، از بین بیماران مبتلا به سرطان روده بزرگ و گروه شاهد از بین سایر بیماران انتخاب شدند. در هر گروه نمونه‌هایی تصادفی به حجم ۱۰۰ بیمار انتخاب شدند. آزمایش‌های تخصصی لازم جهت تعیین نوع ژنوتیپ SNP های مورد نظر برای این بیماران در آزمایشگاه مرکز تحقیقات گوارش و کبد دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی انجام شد. داده‌ها با استفاده از نرم افزار SPSS (ویرایش ۱۶) و آزمون‌های آماری مجذور کای و رگرسیون لجستیک تحلیل شدند.

در ساخت فرآورده‌های دارویی و تشخیص پزشکی ارزش زیادی دارند. SNP ها ثابت تکاملی دارند و از نسلی به نسل دیگر تغییر نمی‌کنند و این موضوع، بررسی آن‌ها را در مطالعه‌های جمعیتی ساده‌تر می‌سازد. پژوهشگران بر این باورند که نقشه‌های SNP، آن‌ها را در یافتن ژن‌های مؤثر در بیماری‌های پیچیده‌ای از جمله سرطان، دیابت، بیماری‌های عروقی و برخی بیماری‌های روانی کمک خواهد کرد. یافتن این همراهی با روش‌های معمول مشکل است، زیرا یک ژن ممکن است تنها نقش کوچکی در روند بیماری‌زایی داشته باشد.^(۵)

افرادی که SNP خاص یا تعدادی از SNP ها را دارند، ممکن است هنگامی که در معرض مواد یا پرتوهای سرطان‌زا قرار می‌گیرند حساس‌تر باشند. یک SNP به تنهایی می‌تواند خطر سرطان را افزایش دهد، ولی با در نظر گرفتن میزان همپوشانی و تعدد در مسیرهای ترمیم DNA، یک SNP به تنهایی نمی‌تواند تأثیر زیادی بر نتیجه نهایی سرطان داشته باشد. اگرچه چند منطقه چند ریختی (پلی مرفیک) می‌توانند خطر سرطان را افزایش دهند.^(۶)

آنزیم دی ان ای (سیتوزین-5) متیل ۱ در انسان، ژن DNMT1 نامیده شده است.^(۷) نقش این ژن استقرار و تنظیم الگوهای بافت خاص از سیتوزین متیل است. الگوی متیلاسیون نابجا با برخی از تومورهای انسانی و توسعه اختلال‌ها مرتبط است. ژن DNMT1 در کروموزوم ۱۹ انسان قرار دارد.^(۸)

سرطان کولورکتال شامل رشد سلول‌های سرطانی در روده بزرگ، راست‌روده و آپاندیس با میزان مرگ و میر سالانه ۶۵۵ هزار نفر در جهان است. این بیماری چهارمین سرطان شایع در ایالات متحده و سومین عامل مرگ وابسته به بیماری‌های سرطانی در جهان غرب است.^(۱۰،۹) سرطان روده بزرگ به دلیل وجود رشد تومور در روده بزرگ ایجاد می‌شود. این تومورها به شکل قارچ و به طور معمول خوش‌خیم هستند، اما در بعضی موارد با گذشت زمان به سرطان تبدیل می‌شوند. انواع موضعی

*** یافته‌ها:**

ژنوتیپ نوع T/T نسبت به نوع G/G برابر
 (۹۵% CI: ۲۴/۱-۵۰۶/۹) $OR=۱۱۰/۵$ به دست آمد که
 در هر دو مورد در سطح $P=۰/۰۰۱$ از نظر آماری معنی‌دار
 بودند (جدول شماره ۳).

**جدول ۳- مقایسه بیماران دو گروه بر حسب SNP
 شماره ۳ (rs16999358)**

جمع	گروه				SNP3	
	شاهد		مورد			
درصد	تعداد	درصد	تعداد	درصد	تعداد	
۵۲/۴	۱۰۰	۸۷/۶	۸۵	۱۶	۱۵	G/G
۲۶/۲	۵۰	۱۰/۳	۱۰	۴۲/۶	۴۰	G/T
۲۱/۵	۴۱	۲/۱	۲	۴۱/۵	۳۹	T/T
۱۰۰	۱۹۱	۱۰۰	۹۷	۱۰۰	۹۴	جمع

در SNP شماره ۴ (rs61750052)، شانس ابتلا به
 سرطان روده بزرگ در ژنوتیپ نوع C/T نسبت به نوع
 C/C برابر $OR=۴(۹۵\% CI: ۱/۱-۱۴/۹)$ و از نظر آماری
 معنی‌دار بود ($P<۰/۰۰۵$)، ولی در ژنوتیپ نوع T/T، با
 توجه به این که در گروه شاهد هیچ موردی از آن مشاهده
 نشده، نسبت شانس‌ها قابل محاسبه نبود (جدول شماره ۴).

**جدول ۴- مقایسه بیماران دو گروه بر حسب SNP
 شماره ۴ (rs61750052)**

جمع	گروه				SNP4	
	شاهد		مورد			
درصد	تعداد	درصد	تعداد	درصد	تعداد	
۸۹/۳	۱۷۵	۹۶/۹	۹۵	۸۱/۶	۸۰	C/C
۶/۶	۱۳	۳/۱	۳	۱۰/۲	۱۰	C/T
۴/۱	۸	۰	۰	۸/۲	۸	T/T
۱۰۰	۱۹۶	۱۰۰	۹۸	۱۰۰	۹۸	جمع

در SNP شماره ۵ (rs16999593)، شانس ابتلا به
 سرطان روده بزرگ در ژنوتیپ نوع A/G نسبت به نوع
 A/A برابر $OR=۳/۵(۹۵\% CI: ۱/۵-۸/۲)$ بود که از نظر
 آماری معنی‌دار بود ($P=۰/۰۰۵$)، ولی شانس ابتلا به
 سرطان روده بزرگ در ژنوتیپ نوع G/G نسبت به نوع

در SNP شماره ۱ (rs61750053)، شانس ابتلا به
 سرطان روده بزرگ در ژنوتیپ نوع A/G نسبت به
 نوع A/A برابر $OR=۵۶/۷(۹۵\% CI: ۱۹/۹-۱۶۱)$ و
 در ژنوتیپ نوع G/G نسبت به نوع A/A
 برابر $OR=۱۱/۸(۹۵\% CI: ۴-۳۴/۶)$ به دست آمد که از
 نظر آماری معنی‌دار بود ($P=۰/۰۰۱$) (جدول شماره ۱).

**جدول ۱- مقایسه بیماران دو گروه بر حسب SNP
 شماره ۱ (rs61750053)**

جمع	گروه				SNP1	
	شاهد		مورد			
درصد	تعداد	درصد	تعداد	درصد	تعداد	
۵۴/۵	۱۰۳	۸۸/۵	۸۵	۱۹/۴	۱۸	A/A
۳۴/۴	۶۵	۵/۲	۵	۶۴/۵	۶۰	A/G
۱۱/۱	۲۱	۶/۲	۶	۱۶/۱	۱۵	G/G
۱۰۰	۱۸۹	۱۰۰	۹۶	۱۰۰	۹۳	جمع

در SNP شماره ۲ (rs62621087)، شانس ابتلا به
 سرطان روده بزرگ در ژنوتیپ نوع A/G نسبت به نوع
 A/A برابر $OR=۳۹/۲(۹۵\% CI: ۱۵/۵-۹۹/۲)$ و در
 ژنوتیپ نوع G/G نسبت به نوع A/A
 برابر $OR=۲۰/۶(۹۵\% CI: ۶/۳-۶۷/۸)$ به دست آمد که
 هر دو مورد از نظر آماری معنی‌دار بودند
 ($P=۰/۰۰۱$) (جدول شماره ۲).

**جدول ۲- مقایسه بیماران دو گروه بر حسب SNP
 شماره ۲ (rs62621087)**

جمع	گروه				SNP2	
	شاهد		مورد			
درصد	تعداد	درصد	تعداد	درصد	تعداد	
۵۴/۴	۱۰۶	۸۸/۸	۸۷	۱۹/۶	۱۹	A/A
۳۴/۴	۶۷	۷/۱	۷	۶۱/۹	۶۰	A/G
۱۱/۳	۲۲	۴/۱	۴	۱۸/۶	۱۸	G/G
۱۰۰	۱۹۵	۱۰۰	۹۸	۱۰۰	۹۷	جمع

در SNP شماره ۳ (rs16999358)، شانس ابتلا به
 سرطان روده بزرگ در ژنوتیپ نوع G/T نسبت به نوع
 G/G برابر $OR=۲۲/۷(۹۵\% CI: ۹/۴-۵۴/۹)$ و در

چندین برابر افراد با ژنوتیپ صفر بود. لازم به ذکر است که در هر SNP، ژنوتیپ غالب با کد صفر و دو ژنوتیپ دیگر با کدهای ۱ و ۲ شناخته می‌شوند. لذا می‌توان با بررسی این ژن و SNPهای مربوط به آن، افراد مستعد به سرطان روده بزرگ را شناسایی نمود و اقدام لازم را جهت پیشگیری از بروز این بیماری انجام داد.

مارتا اسلتری و همکاران در یک تحقیق مورد شاهدی ارتباط بین rs ۴۴۶۴۱۴۸ را با سرطان روده بزرگ نشان دادند. در مطالعه آن‌ها، نسبت شانس ابتلا به سرطان روده بزرگ در مقایسه با ژنوتیپ TT، در افرادی که ژنوتیپ CT و CC داشتند به طور معنی‌داری بالاتر بود.^(۱۲)

در تحقیق دیگری که در سال ۲۰۰۳ توسط ویلیام گرادای انجام شد، ۲۰ تا ۳۰ درصد افراد مبتلا به سرطان روده بزرگ، دارای یک عامل ارثی قابل اثبات بودند.^(۱۳) به طور کلی، به نظر می‌رسد می‌توان با شناسایی SNPهای افراد، میزان خطر ابتلا به بیماری سرطان روده بزرگ را پیش‌بینی نمود و جهت پیشگیری از ابتلای آنان، اقدام لازم را انجام داد.

* سپاس‌گزاری:

از همکاری کارکنان محترم مرکز تحقیقات بیماری‌های گوارش و کبد دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی و آقای دکتر مهدی منتظر حقیقی تشکر می‌شود.

* مراجع:

1. Yue P, Moul J. Identification and analysis of deleterious human SNPs. *J Mol Biol* 2006 Mar 10; 356(5): 1263-74
2. Väli U, Brandström M, Johansson M, Ellegren H. Insertion-deletion polymorphisms (indels) as genetic markers in natural populations. *BMC Genet* 2008 Jan 22; 9: 8
3. Vignal A, Milan D, SanCristobal M, Eggen A. A review on SNP and other types of molecular markers and their use in animal

A/A برابر (۹۵% CI: ۰/۱-۳/۲) OR=۰/۶ بود که از نظر آماری معنی‌دار نبود (جدول شماره ۵).

جدول ۵- مقایسه بیماران دو گروه بر حسب SNP شماره ۵ (rs1۶۹۹۹۵۹۳)

جمع	گروه				جمع	SNP5
	شاهد		مورد			
درصد	تعداد	درصد	تعداد	درصد	تعداد	
۸۰/۱	۱۵۳	۸۷/۲	۸۲	۷۳/۲	۷۱	A/A
۱۶/۸	۳۲	۸/۵	۸	۳۴/۷	۲۴	A/G
۳/۱	۶	۴/۳	۴	۲/۱	۲	G/G
۱۰۰	۱۹۱	۱۰۰	۹۴	۱۰۰	۹۷	جمع

در SNP شماره ۶ (rs۲۲۲۸۶۱۳)، شانس ابتلا به سرطان روده بزرگ در ژنوتیپ نوع C/T نسبت به نوع C/C برابر (۹۵% CI: ۷/۶-۵۰/۶) OR=۱۹/۶ و در ژنوتیپ نوع T/T نسبت به نوع C/C برابر (۹۵% CI: ۳/۷-۳۱) OR=۱۰/۷ به دست آمد که هر دو مورد از نظر آماری معنی‌دار بودند (P= ۰/۰۰۱) (جدول شماره ۶).

جدول ۶- مقایسه بیماران دو گروه بر حسب SNP شماره ۶ (rs۲۲۲۸۶۱۳)

جمع	گروه				جمع	SNP6
	شاهد		مورد			
درصد	تعداد	درصد	تعداد	درصد	تعداد	
۶۰/۳	۱۱۴	۸۸/۳	۸۳	۳۲/۶	۳۱	C/C
۲۶/۵	۵۰	۶/۴	۶	۴۶/۳	۴۴	C/T
۱۳/۲	۲۵	۵/۳	۵	۲۱/۱	۲۰	T/T
۱۰۰	۱۸۹	۱۰۰	۹۴	۱۰۰	۹۵	جمع

* بحث و نتیجه‌گیری:

مطالعه حاضر نشان داد که در هر ۶ مورد SNP مورد بررسی در ژن DNMT1 از کروموزوم ۱۹ انسان تفاوت معنی‌داری بین مبتلایان به سرطان روده بزرگ با افراد گروه شاهد وجود داشت؛ به این معنی که شانس ابتلا به سرطان روده بزرگ در افراد با ژنوتیپ ۱ یا ۲

- genetics. *Genet Sel Evol* 2002 May-Jun; 34(3): 275-305
4. Carlson, B. SNPs — A Shortcut to Personalized Medicine. *Genetic Engineering & Biotechnology News* (Mary Ann Liebert, Inc.) (2008) 12
5. Sachidanandam R, Weissman D, Schmidt SC, et al. A map of human genome sequence variation containing 1.42 million single nucleotide polymorphisms. *Nature* 2001 Feb 15; 409(6822): 928-33
6. Morita A, Nakayama T, Doba N, et al. Genotyping of triallelic SNPs using TaqMan PCR. *Mol Cell Probes* 2007 Jun; 21(3): 171-6
7. Yen RW, Vertino PM, Nelkin BD, et al. Isolation and characterization of the cDNA encoding human DNA methyltransferase. *Nucleic Acids Res.* 1992 May 11; 20(9): 2287-91
8. "Entrez Gene:DNMT1 DNA((cytosine-5)-methyltransferase 1"
9. Cancer. World Health Organization. 2006 Feb; updated in: 2007May 24
10. Cancer. National Cancer Institute. 2009
11. Markowitz SD, Bertagnolli MM. Molecular origins of cancer: Molecular basis of colorectal cancer. *N Engl J Med* 2009 Dec 17; 361(25): 2449-60
12. Slattery ML, Herrick J, Curtin K, Increased risk of colon cancer associated with a genetic polymorphism of SMAD7. *Cancer Res.* 2010 Feb 15; 70(4): 1479-85
13. Grady WM. Genetic testing for high-risk colon cancer patients. *Gastroenterology.* 2003 May; 124(6): 1574-94