گزارش کوتاه

مجلهٔ دانشگاه علوم پزشکی بابل
دوره نوزدهم، شماره ۱، دی ۱۳۹۵، صفحه ۶۷-۶۱

مقایسه فراوانی ویروس اپشتین بار در بافتهای سرطان مری

رابعه رحمانی (MSc)[۱]، مجید علی‌پور (PhD)[۱]، فرزین صادقی (PhD)[۲]، محمود حاجی احمدی (PhD)[۳]، نوین نیک بخش (MD)[۴]، سپیده سیادتی (MD)[۴]، یوسف یحیی پور (PhD)[۵*]

۱-گروه زیست شناسی، دانشگاه آزاد اسلامی بابل
۲-مرکز تحقیقات بیولوژی سلولی و مولکولی، پژوهشکده سلامت، دانشگاه علوم پزشکی بابل
۳-مرکز تحقیقات بیماری های غیرواگیر کودکان امیرکلا، دانشگاه علوم پزشکی بابل
۴-مرکز تحقیقات سرطان، پژوهشکده سلامت، دانشگاه علوم پزشکی بابل
۵-مرکز تحقیقات بیماری های عفونی و گرمسیری، پژوهشکده سلامت، دانشگاه علوم پزشکی بابل

دریافت: ۹۵/۵/۲۴، اصلاح: ۹۵/۷/۶، پذیرش: ۹۵/۹/۶

خلاصه

سابقه و هدف: سرطان مری یکی از شایعترین سرطان های سیستم گوارش است که عفونت با ویروس های سرطان زا بعنوان یکی از عوامل خطر این سرطان مطرح می باشند. ویروس اپشتین-بار (Epstein-Barr Virus; EBV)یک ویروس سرطان زای انسانی است که میتواند سلولهای اپیتلیال را آلوده کرده و منجر به بدخیمی آنها شود. برخی مطالعات به نقش EBV در بروز کارسینوم سنگفرشی مری(Esophageal squamous cell carcinoma= ESCC) اشاره دارند. ولی نتایج مطالعات مختلف متفاوت است. این مطالعه با هدف تعیین فراوانی EBV در نمونه‌های بیماران مبتلا به ESCC و نمونه‌های نرمال یا بدون ضایعه سرطانی بافت مری انجام گردید.

مواد و روش‌ها: دراین مطالعه مقطعی، ۱۰۰ نمونه بافت پارافینه بیماران سرطان مری و ۶۸ نمونه بافت پارافینه نرمال یا ضایعه غیرسرطانی مورد بررسی قرار گرفتند. پس از پارفین زدایی از نمونه های بافتی، DNA استخراج گردید. کلیه نمونه‌های DNA استخراج شده با روش Real Time PCR برای سنجش حضور ژنوم EBV با استفاده از پرایمرها و پروب اختصاصی EBV مورد آزمایش قرار گرفتند.

یافته‌ها: ژن EBV EBER در ۱۰ مورد (۱۰٪) از نمونه‌های سرطان مری و در ۳ مورد (۴/۴٪) از نمونه‌های کنترل غیرسرطانی مری مثبت تشخیص داده شدند، که می‌تواند نشاندهنده حضور EBV در سلولهای سرطانی و غیرسرطانی مری باشد.

نتیجه گیری: نتایج مطالعه نشان داد که فراوانی ویروس اپشتین بار در بافت های سرطان مری نشان داد. ولی این یافته نمی تواند نقش EBV را در ابتلا به سرطان مری تایید یا رد کند.

واژه‌های کلیدی: ویروس اپشتین بار، کارسینوم سنگفرشی مری، Real Time PCR.

مقدمه

سرطان مری یکی از شایعترین سرطانهای درگیر کننده سیستم گوارشی و ششمین سرطان کشنده انسانی در دنیا می باشد. این نوع سرطان در ناحیه ای از جهان بنام کمربند آسیایی سرطان مری که از سواحل جنوبی دریای مازندران در ایران تا چین شمالی امتداد دارد، از شیوع بسیار بالایی برخوردار است (۱). سیگار کشیدن، مصرف مشروبات الکلی، عوامل تغذیه ای و محیطی از فاکتورهای خطر شناخته شده برای سرطان مری هستند(۲). در حال حاضر عوامل خطر دیگری را نیز برای ابتلا به سرطان مری پیشنهاد می کنند که از آنها میتوان به عفونت با ویروس های سرطان زا اشاره نمود(۳). ویروس های سرطان زای انسانی عامل مسبب تقریباً ۱۰ تا ۱۵ درصد از موارد سرطان در سراسر دنیا محسوب می‌شوند(۴). ویروس اپشتین-بار (EBV=Epstein-Barr Virus) یک گاما هرپس ویروس انسانی بوده و انسان تنها میزبان طبیعی آن است. EBV، همچنین بعنوان هرپس ویروس انسانی ۴ (Human Herpesvirus-4; HHV-4) نامیده می‌شود که یکی از ۸ هرپس‌ویروس انسانی است که تروپیسم به لنفوسیت‌های B و سلول‌های اپیتلیال دارد. تقریباً ۹۵ درصد از بالغین در سراسر دنیا با EBV آلوده‌اند (۵). عفونت اولیه با این ویروس معمولاً در دوران کودکی رخ داده و افراد آلوده معمولاً در تمام عمر خود به صورت ناقل ویروس باقی می‌مانند. این ویروس به عنوان عامل اتیولوژیک مونونوکلئوز عفونی (Infectious Mononucleosis) بوده و با ایجاد بدخیمی در لنفوسیت‌های B و سلولهای اپیتلیال مرتبط است. در سال ۱۹۹۷ آژانس بین المللی تحقیقات سرطان (International Agency for Research on Cancer=IARC) سرطان‌زا بودن این ویروس را در انسان اعلام کرد. در حال

▣ این مقاله حاصل بخشی از پایان نامه کارشناسی ارشد رابعه رحمانی دانشجوی رشته زیست شناسی دانشگاه آزاد اسلامی واحد بابل و طرح تحقیقاتی با شماره ۹۴۴۰۱۹ دانشگاه علوم پزشکی بابل می باشد.

*مسئول مقاله: دکتر یوسف یحیی‌پور
آدرس: بابل، جاده گنج افروز، دانشگاه علوم پزشکی بابل، مرکز تحقیقات بیماریهای عفونی و گرمسیری. تلفن: ۳۲۲۰۷۹۱۸-۰۱۱ E-mail: uyahyapoor@yahoo.com

[DOR: 20.1001.1.15614107.1395.19.1.9.6]
[DOI: 10.22088/jbums.19.1.61]

حاضر مدارک محکمی در مورد نقش EBV به عنوان عامل مسبب لنفوم بورکیت، کارسینوم نازوفارنکس، بیماری هوچکین و لنفومای مرتبط با سرکوب سیستم ایمنی وجود دارد (۶). EBV همچنین با سرطانهای حلق، مری و سرطان معده در ارتباط است (۹-۷). سرطانهای بافت اپی‌تلیالی و لنفاوی مانند سرطان های نواحی شکم، ریه و رحم نیز با عفونت این ویروس ارتباط دارند (۱۱و۱۰). احتمال بروز سرطان مری در شمال چین، شمال آسیا و شمال ایران بیشتر از سایر مناطق جهانمی‌باشد (۲). در سالهای اخیر برخی مطالعات به نقش EBV در بروز کارسینوم سنگفرشی مری (Esophageal Squamous Cell Carcinoma= ESCC) اشاره دارند (۱۲). مطالعات محدودی از ارتباط EBV با سرطان مری در دسترس است که برخی از آنها نیز هیچ ارتباطی را بین EBV و سرطان مری نشان نمی‌دهند و برخی مطالعات میزانی حدود ۳۵/۵-۱/۸٪ را در سرطان مری نشان می‌دهند (۱۷-۱۳). با اینحال، هنوز ارتباط قطعی بین عفونت با این ویروس و ابتلا به این نوع بدخیمی‌ها اثبات نشده است. با توجه به اینکه ژنوم EBV در مجرای گوارشی فوقانی (حفره دهانی و مری) یافت شده است، مواجهه پیوسته این مجرا با این ویروس سرطان‌زا ممکن است در بروز بدخیمی نقش داشته باشد.

بررسی‌ها نشان داد که مصرف فراوان الکل و تنباکو می‌تواند عامل بیش از ۹۰٪ موارد ESCC در این نواحی باشد(۱۸). در صورتیکه در ایران به خصوص در ناحیه شمالی که بر روی کمربند سرطان مری هستند، مصرف این مواد پائین است(۱۹). لذا، توجیه مناسبی جهت شیوع بالای ESCC در این نواحی نمی‌توان یافت. بنابراین، عوامل خطرزای دیگری را باید در رابطه با شیوع بالای ESCC در این نواحی متصور شد. عوامل ویروسی مانند EBV می‌تواند یکی از فاکتورهایی باشد که شیوع بالای این نوع سرطان را در این نواحی توجیه می نماید. مطالعات مختلف حاکی از این است که این ویروس می‌تواند سلولهای اپی‌تلیال را آلوده کرده و سبب ترانسفورماسیون آنها به سمت بدخیمی شود(۲۱و۲۰).

گستردگی در محدوده میزان شناسایی شده ممکن است مربوط به عوامل مختلفی باشد. فاکتورهایی نظیر نژاد و موقعیت جغرافیایی به نظر می‌رسد نقش مهمی داشته باشند. همچنین، بسته به حساسیت و اختصاصیت روش تشخیص مورد استفاده، ممکن است میزان شناسایی EBV متفاوت باشد. برخی روشهای تشخیصی مورد استفاده نظیر ساترن بلات، PCR و Nested PCR برای شناسایی DNA ویروسی بعنوان روشهایی با حساسیت و ویژگی بالا مورد توجه هستند(۲۰). از این رو مطالعات بیشتر بر روی نقش EBV در ایجاد ESCC ضروری به نظر می‌رسد. با توجه به اینکه استان مازندران بر روی کمربند جهانی سرطان مری قرار گرفته است و در واقع یکی از مناطق پرخطر ابتلا به این سرطان محسوب می‌شود و مطالعات زیادی در این ارتباط در شمال کشور انجام نشده است، این مطالعه با هدف تعیین فراوانی ویروس EBV در نمونه‌های بیماران مبتلا به ESCC و نمونه‌های نرمال یا بدون ضایعه سرطانی بافت مری با استفاده از روش Real Time PCR برای سنجش حضور ژنوم EBV انجام گردید.

مواد و روش‌ها

نمونه بیماران: در این مطالعه مقطعی، ۱۰۰ نمونه بافت پارافینه بیماران سرطان مری از نوع SCC (۵۹ مرد و ۴۱ زن) در محدوده سنی ۹۱-۳۸ سال و ۶۸ نمونه بافت پارافینه افرادی که آندوسکوپی شدند و از نظر تشخیص پاتولوژی بعنوان بافت نرمال یا ضایعه غیرسرطانی تشخیص داده شدند در محدوده سنی ۹۰-۴۲ سال (۴۲ مرد و ۲۶ زن)، مورد بررسی قرار گرفت. نمونه ها از نظرویروس اپشتین-بار (EBV)، سن، جنس و محل سکونت بررسی شدند. مطالعه حاضر دارای مجوز اخلاقی از دانشگاه علوم پزشکی بابل با کد اخلاق Mubabol.REC.1394.79 می باشد.

استخراج DNA: جهت استخراج DNA از نمونه‌های پارفینه، ابتدا عمل پارفین زدایی از نمونه ها با استفاده از زایلن و اتانول مطلق مطابق با دستور العمل مطالعات قبلی صورت گرفت(۱۷).

استخراج DNA ازبافت توسط کیت High Pure PCR Template Preparation (Roche Diagnostics, Mannheim, Germany) و کاملاً مطابق دستورالعمل شرکت سازنده کیت صورت گرفت. در نهایت کیفیت DNA استخراج شده توسط دستگاه نانودراپ (Thermo Scientific, Wilmington, USA) ارزیابی شد.

آزمایش Real Time PCR: آزمایش Real Time PCR برای سنجش حضور ژنوم ویروس EBV با استفاده از مستر میکس YTA Probe qPCR MasterMix (Yekta Tajhiz) و با استفاده از پرایمرها و پروب اختصاصی ویروس EBV (جدول ۱) و براساس ترکیب اجزای بکار رفته (جدول ۲) و برنامه پایه‌ریزی شده (جدول ۳) توسط دستگاه Applied Biosystems 7300 Real Time PCR System انجام شد.

نمونه کنترل مثبت برای ویروس EBV: برای دستیابی به ژنوم ویروسEBV به عنوان کنترل مثبت جهت انجام آزمایش شناسایی ژنوم EBV در نمونه‌های مورد نظر، رده سلولی لنفوبلاستوئیدی B با نام B-95-8 که بطور ذاتی EBV را در مایع رویی (Supernatant) کشت سلولی ترشح می‌کند از بانک سلولی انستیتو پاستور ایران تهیه گردید. پس از استخراج DNA ویروسی از مایع رویی سلول فوق، از آن به عنوان کنترل مثبت در آزمایش Real Time-PCR استفاده گردید.

جدول۱. پرایمرها و پروب مورد استفاده در واکنشReal Time PCR جهت سنجش وجود ژنوم ویروس EBV

ژن مورد هدف	نام پرایمرها و پروب	توالی بازها ('۳-'۵)
EBV EBER Gene	*EBER-F-Primer*	5'- *TGACGTAGTCTGTCTTGAGGAGATG* -3'
	EBER-R-Primer	5'- CGTCTCCTCCCTAGCAAAACC -3'
	EBER-Probe	FAM-TGCAAAACCTCAGGACCTACGCTGC-TAMRA

[DOR: 20.1001.1.15614107.1395.19.1.9.6]
[DOI: 10.22088/jbums.19.1.61]

آزمون های آماری: در این مطالعه داده ها توسط نرم افزار SPSS ۲۲ و آزمون chi-square تجزیه و تحلیل شدند و $p<۰/۰۵$ از نظر آماری معنی دار در نظر گرفته شد.

جدول ۲. ترکیب اجزاء به کار رفته در واکنش Real Time PCR جهت سنجش وجود ژنوم ویروس EBV

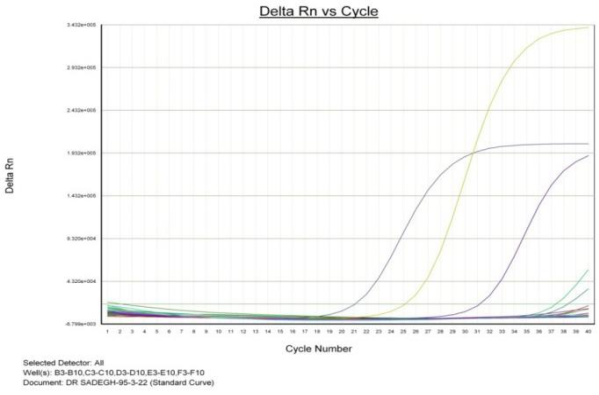
ترکیب	حجم
2X qPCR MasterMix برای پروب	۱۲/۵µl
مخلوط پرایمرها و پروب (۱۰۰pmol/µl)	۱/۲ µl
Passive Reference Dye I (50X)	۰/۳ µl
آب عاری از نوکلئاز	۶µl
DNA نمونه	۵µl
حجم نهایی	۲۵µl

جدول ۳. برنامه مورد استفاده در دستگاه Real Time PCR جهت سنجش وجود ژنوم ویروس EBV

مراحل	دما (°C)	زمان	تعداد سیکل
Initial Denaturation	۹۵	۱۰ دقیقه	۱
Denaturation	۹۵	۳۰ ثانیه	۴۰
Annealing/ Extension	۶۰	۶۰ ثانیه	

یافته ها

در این مطالعه میانگین سنی بیماران مبتلا به ESCC؛ ۱۰/۷±۶۶/۸ سال و میانگین سنی بیماران غیرسرطانی ۱۲/۵±۶۴/۳ سال بود. براساس نتایج کیفی حاصل از آزمایشات Real Time PCR، ژن EBV EBER در ۱۰ مورد (۱۰٪) از نمونه‌های سرطانی و در ۳ مورد (۴/۴٪) از نمونه‌های کنترل غیرسرطانی مری مثبت تشخیص داده شدند، (نمودار ۱). میزان حضور EBV DNA در مردان هر دو گروه مورد و شاهد بیشتر از خانمها بوده است (به ترتیب ۶۰٪ و ۱۰۰٪). بیشترین فراوانی نسبی حضورEBV DNA درگروه سنی ۷۴-۶۵ سال از مورد مشاهده شد (۵۰٪). از طرفی میزان حضور ژنوم این ویروس در نمونه بیماران ساکن شهر بیشتر از روستا مشاهده گردید(جداول ۵و۴). ارتباط معنی داری بین حضور EBV DNA با متغیرهایی نظیر سن، جنس و محل سکونت در هر دو گروه مشاهده نشد.



نمودار ۱. نتایج حاصل از آزمایش Real Time -PCR جهت سنجش وجود ژنوم EBV در نمونه های بالینی بافت ESCC و بافت غیرسرطانی مری (نمونه های مورد و شاهد) به همراه کنترل مثبت(B-95-8)

جدول ۴. فراوانی نسبی حضور EBV DNA در نمونه‌های بافت ESCC در استان مازندران

متغیر	EBV DNA مثبت تعداد(درصد)	منفی تعداد(درصد)	جمع تعداد(درصد)
جنس			
مرد	۶(۶۰)	۵۳(۵۸/۹)	۵۹(۵۹)
زن	۴(۴۰)	۳۷(۴۱/۱)	۴۱(۴۱)
سن (سال)			
کمتر از ۵۵	۱(۱۰)	۱۹(۲۱/۱)	۲۰(۲۰)
۵۵ تا ۶۴	۲(۲۰)	۱۳(۱۴/۴)	۱۵(۱۵)
۶۵ تا ۷۴	۵(۵۰)	۳۷(۴۱/۱)	۴۲(۴۲)
بیشتر و مساوی ۷۵	۲(۲۰)	۲۱(۲۳/۳)	۲۳(۲۳)
محل سکونت			
شهر	۷(۷۰)	۴۱(۴۵/۶)	۴۸(۴۸)
روستا	۳(۳۰)	۴۹ (۵۴/۴)	۵۲(۵۲)

جدول ۵. فراوانی نسبی حضور EBV DNA در نمونه‌های بافت غیرسرطانی مری در استان مازندران

متغیر	EBV DNA مثبت تعداد(درصد)	منفی تعداد(درصد)	جمع تعداد(درصد)
جنس			
مرد	۳ (۱۰۰)	۳۹(۶۰)	۴۲(۶۱/۸)
زن	۰ (۰/۰)	۲۶(۴۰)	۲۶(۳۸/۲)
سن (سال)			
کمتر از ۵۵	۰ (۰/۰)	۱۹(۲۹/۲)	۱۹(۲۷/۹)
۵۵ تا ۶۴	۱ (۳۳/۳)	۱۵(۲۳/۱)	۱۶(۲۳/۵)
۶۵ تا ۷۴	۱ (۳۳/۳)	۱۵(۲۳/۱)	۱۶(۲۳/۵)
بیشتر و مساوی ۷۵	۱ (۳۳/۳)	۱۶ (۲۴/۶)	۱۷(۲۵)
محل سکونت			
شهر	۱ (۳۳/۳)	۳۶ (۵۵/۴)	۳۷(۵۴/۴)
روستا	۲ (۶۶/۷)	۲۹ (۴۴/۶)	۳۱(۴۵/۶)

بحث و نتیجه گیری

نتایج حاصل از این بررسی، در ۱۰ درصد نمونه‌های ESCC و ۴/۴ درصد نمونه‌های بافت غیرسرطانی مری، EBV DNA با روش Real Time PCR را شناسایی کرد. سرطان سلول‌های سنگفرشی مری به عنوان شایعترین نوع بدخیمی مری محسوب شده و شیوع بالایی را در کشور های کمتر توسعه یافته از جمله استان های شمالی ایران دارد. در کشورهای غربی خطر سرطان سلول های سنگفرشی مری به طور کلی پائین است. Wu و همکارانش با بررسی ۱۶۴ نمونه جراحی سرطان سلول های سنگفرشی مری، میزان پروتئین‌های EBV EBER را در ۶/۷٪ و LMP-1 را در ۱/۶٪ با روش‌های ISH و IHC (ایمونوهیستو-شیمی) شناسایی کردند(۱۴). Jenkins و همکاران، حضور EBV را در ۸/۳٪ موارد از نمونه بیماران در آمریکا گزارش کردند(۲۲). Wang و همکاران، EBV را در ۳۵٪ موارد در تایوان شناسایی کردند (۲۳). Awerkiew و همکاران نیز EBV را در ۳۵٪ از موارد (۸ از ۲۳ نمونه) نمونه‌های سرطانی بیماران آلمان شناسایی کردند(۲۴). Sedaghat و همکاران با بررسی تنها ۲۸ نمونه سرطانی بیماران ایرانی، میزان حضور EBV را در ۱۲ مورد (۴۲/۸٪) نشان دادند(۲۵). همچنین Haghshenas و همکارانش با روش PCR میزان EBV DNA را در ۱۰٪

[DOR: 20.1001.1.15614107.1395.19.1.9.6]
[DOI: 10.22088/jbums.19.1.61]

موارد گزارش می‌دهند که مشابه با نتایج مطالعه حاضر می باشد(۲۶). این در حالی است که در بررسی حاضر باتوجه به حجم نمونه بیشتر و مقایسه با نمونه غیرسرطانی این میزان بسیار کمتر از مطالعه Sedaghat و همکاران (۱۰٪ در برابر ۴۲/۸٪) ولی مشابه میزان گزارش شده در مطالعه Haghshenas و همکارانش در نمونه بیماران مازندرانی و گلستانی می‌باشد، با این تفاوت که در بررسی حاضر از تعداد نمونه بیش از دو برابر و نیم و نیز نمونه شاهد غیرسرطانی و همچنین از روش مولکولی دقیق‌تری استفاده گردید.

Zhang و همکارانش، در ناحیه Shantou از استان Guangdong کشور چین، با بررسی حضور ویروس‌های HPV-1، HSV-1، CMV و EBVدر نمونه بافت بیماران مبتلا به سرطان مری، با روشNested PCR، میزان EBV را در اتیولوژی ESCC در این ناحیه از کشور چین، DNA ویروس EBV را در مخاط ۷۰ نمونه ESCC۳۰٪ گزارش کردند. همچنین، آنها میزان حضور EBV را در مخاط نمونه‌های ESCC بطور قابل‌توجهی بیشتر از نمونه‌های مخاط نرمال (۷/۴٪) نشان دادند و بیشترین میزان آلودگی را در بیماران با محدوده سنی ۵۸–۴۸ سال گزارش کردند(۸). اختلاف بین میزان EBV DNA در نمونه‌های سرطانی و غیرسرطانی مری در مطالعه ما نیز با نسبت کمتری مشابه مطالعه Zhang بدست آمده است. در مطالعه Awerkiew و همکاران با مطالعه بر روی ۷۲ نمونه ESCC و ۴۰ نمونه آدنوکارسینوما از آلمان و ۴۳ نمونه ESCCاز روسیه حضور EBV DNA را بوسیله PCR و ISH نشان دادند. آنها، میزان حضور EBV DNA را با روش Nested PCR در ۳۴٪ از نمونه-های ESCC و ۲۶٪ از نمونه‌های آدنوکارسینوما گزارش کردند و با استفاده از Real-time PCRمیزان یک کپی از ژنوم EBV را در هر ۲۰۰۰۰۰–۲۷ سلول مشخص کردند. درصورتیکه با روش In-Situ Hybridization بر روی EBER RNA هیچ کپی اختصاصی از EBV در هسته سلولهای توموری نشان داده نشد. درصورتیکه، در نسخه‌های EBER در هسته ۷ نمونه ESCC و یک نمونه AC از ۲۴ نمونه EBV DNA مثبت بیان شدند(۲۷).

همچنین، برخی گزارشات نظیر مطالعه Yanai و همکاران در ژاپن (۲۸)، Sunpaweravong و همکارانش در تایلند (۱۶) و Hong و همکارانش (۲۹) با روشهای ISH و PCR حاکی از منفی بودن تمامی نمونه‌های ESCC تحت مطالعه می‌باشد. در سایر مطالعات، EBV DNA و یا نسخه‌های EBER در موارد خیلی نادر، ۷–۴٪ یا در هیچ موردی مشاهده نشد(۳۲–۳۰).

با توجه به اینکه ارتباط بین EBV و سرطان مری بیشتر بر روی بافتهای بلوک پارافینه انجام شده است، به نظر می‌رسد که مطالعه برروی نمونه بافتهای تازه می‌تواند در نشان دادن این ارتباط دقیق‌تر باشد. همچنین، پیشنهاد می‌گردد میزان بیان برخی پروتئین‌های مهم این ویروس بر روی بافتهای تازه صورت پذیرد. نتایج این مطالعه نشان داد، اگرچه شیوع EBV DNA در نمونه‌های کنترل غیرسرطانی پائینتر از نمونه‌های سرطان مری بوده ولی این موضوع نمی تواند بیانگر ارتباط علت و معلولی بین EBV و نقش آن در ابتلا به ESCC باشد. با توجه به اینکه میزان EBV DNA شناسایی شده در مناطق مختلف دنیا و براساس روش‌های تشخیص آزمایشگاهی مختلف، متفاوت می‌باشد، انجام مطالعات وسیعتر بر روی جمعیت های نژادی مختلف و استفاده از روشهای تشخیصی استانداردتر برای روشن شدن بیشتر این ارتباط مفید خواهد بود.

تقدیر و تشکر

بدینوسیله از معاونت محترم تحقیقات و فناوری دانشگاه علوم پزشکی بابل جهت حمایت مالی از این تحقیق و همکاری کارشناس آزمایشگاه میکروب شناسی دانشکده پزشکی، خانم آیناز خادمیان، تشکر و قدردانی می گردد.

[DOR: 20.1001.1.15614107.1395.19.1.9.6]
[DOI: 10.22088/jbums.19.1.61]

Comparing the Frequency of Epstein–Barr Virus in Esophageal Cancer Tissue

R. Rahmani (MSc)[1], M. Alipour (PhD)[1], F. Sadeghi(PhD)[2], M. Haji Ahmadi (PhD)[3], N. Nikbakhsh (MD)[4], S. Syadati (MD)[4], Y. Yahyapour (PhD) *[5]

1.Department of Biology, Azad University of Babol, Babol, I.R.Iran
2.Cellular & Molecular Research, Health Institute, Babol University of Medical Sciences, Babol, I.R.Iran
3.Non-Communicable Diseases Research Center of Amirkola, Health Institute, Babol University of Medical Sciences, Babol, I.R.Iran.
4.Cancer Research Center, Health Institute, Babol University of Medical Sciences, Babol, I.R.Iran
5.Infectious Diseases & Tropical Medicine Research Center, Health Institute, Babol University of Medical Sciences, Babol, I.R.Iran

J Babol Univ Med Sci; 19(1); Jan 2017; PP: 61-7
Received: Aug 14th 2016, Revised: Sep 27th 2016, Accepted: Nov 26th 2016.

ABSTRACT

BACKGROUND AND OBJECTIVE: Esophageal cancer is one of the most common cancers of the digestive system and infection with cancer-causing viruses is considered as one of the risk factors for this type of cancer. Epstein-Barr virus (EBV) is a human carcinogenic virus that can infect epithelial cells and lead to their malignancy. Some studies indicate the role of EBV in Esophageal Squamous Cell Carcinoma (ESCC). However, studies reveal different results. This study aims to determine the frequency of EBV in samples obtained from patients with ESCC and normal samples or samples without esophageal cancer lesion.

METHODS: In this cross-sectional study, 100 samples of paraffin-embedded tissue in patients with esophageal cancer and 68 samples of normal paraffin-embedded tissue or noncancerous lesion were examined. After deparaffinization of tissue samples, DNA was extracted. All the DNA samples extracted using Real Time PCR method were examined to assess the presence of EBV genome using EBV specific primers and probes.

FINDINGS: EBV EBER gene was detected in 10 cases (10%) of esophageal cancer samples and in 3 (4.4%) of the non-cancerous control samples, indicating the presence of EBV in cancerous and non-cancerous cells.

CONCLUSION: Results of this study demonstrated the Frequency of Epstein–Barr virus in esophageal cancer tissue. However, these results cannot confirm or reject the role of EBV in occurrence of esophageal cancer.

KEY WORDS: *Epstein-Barr Virus, Esophageal Squamous Cell Carcinoma, Real time PCR.*

Please cite this article as follows:
Rahmani R, Alipour M, Sadeghi F, Haji Ahmadi M, Nikbakhsh N, Syadati S, Yahyapour Y. Comparing the Frequency of Epstein–Barr Virus in Esophageal Cancer Tissue. J Babol Univ Med Sci. 2017;19(1):61-7.

* **Corresponding author: Y. Yahyapour (PhD)**
Address: Infectious Diseases & Tropical Medicine Research Center, Babol University of Medical Sciences, Babol, I.R.Iran
Tel: +98 11 32207918
E-mail: uyahyapoor@yahoo.com

[DOR: 20.1001.1.15614107.1395.19.1.9.6]
[DOI: 10.22088/jbums.19.1.61]

References

1.Di Pardo BJ, Bronson NW, Diggs BS, Dolan JP, Thomas ChR, Hunter JG, et al. The global burden of esophageal cancer: a disability-adjusted life-year approach. World J Surg. 2016;40(2):395-401.

2.Islami F, Kamangar F, Nasrollahzadeh D, Møller H, Boffetta P, Malekzadeh R. Oesophageal cancer in golestan province, a high-incidence area in northern Iran - a review. Eur J Cancer. 2009;45(18):3156-65.

3.Lin S1, Wang X1, Huang C2, Liu X1, Zhao J1, Yu IT, et al. Consumption of salted meat and its interactions with alcohol drinking and tobacco smoking on esophageal squamous-cell carcinoma. Int J Cancer. 2015;137(3):582-9.

4.Al-Haddad S1, El-Zimaity H, Hafezi-Bakhtiari S, Rajendra S, Streutker CJ, Vajpeyi R, et al. Infection and esophageal cancer. Ann N Y Acad Sci. 2014;1325:187-96.

5.Moore PS1, Chang Y. Why do viruses cause cancer? Highlights of the first century of human tumour virology. Nat Rev Cancer. 2010;10(12):878-89.

6.Javier RT, Butel JS. The history of tumor virology. Cancer Res. 2008;68(19):7693-706.

7.Shinozaki-Ushiku A, Kunita A, Fukayama M. Update on Epstein-Barr virus and gastric cancer (review). Int J Oncol. 2015;46(4):1421-34.

8.Zhang DH1, Zhang QY, Hong CQ, Chen JY, Shen ZY, Zhu Y. Prevalence and association of human papillomavirus 16, Epstein-Barr virus, herpes simplex virus-1 and cytomegalovirus infection with human esophageal carcinoma: a case-control study. Oncol Rep. 2011;25(6):1731-8.

9.Polz-Gruszka D1, Stec A2, Dworzański J2, Polz-Dacewicz M. EBV, HSV, CMV and HPV in laryngeal and oropharyngeal carcinoma in Polish patients. Anticancer Res. 2015;35(3):1657-61.

10.Aromseree S, Pientong C, Swangphon P, Chaiwongkot A, Patarapadungkit N, Kleebkaow P. Possible contributing role of Epstein-Barr virus (EBV) as a cofactor in human papillomavirus (HPV)-associated cervical carcinogenesis. J Clin Virol. 2011;73:70-6.

11.Khenchouche A1, Sadouki N, Boudriche A, Houali K, Graba A, Ooka T. Human papillomavirus and Epstein-Barr virus co-infection in cervical carcinoma in algerian women. Virol J. 2013;10: 340.

12.Chang CM1, Yu KJ, Mbulaiteye SM, Hildesheim A, Bhatia K. The extent of genetic diversity of Epstein-Barr virus and its geographic and disease patterns: a need for reappraisal. Virus Res. 2009;143(2):209-21.

13.Genitsch V, Novotny A, Seiler CA, Kröll D, Walch A, Langer R. Epstein-barr virus in gastro-esophageal adenocarcinomas - single center experiences in the context of current literature. Front Oncol. 2015;25:73.

14.Wu MY1, Wu XY, Zhuang CX. Detection of HSV and EBV in esophageal carcinomas from a high-incidence area in Shantou China. Dis Esophagus. 2005;18(1):46-50.

15.Terada T. Epstein-barr virus-associated primary lymphoepitheliomalike carcinoma of the esophagus. Diagn Mol Pathol. 2007;16(1):27-31.

16.Sunpaweravong S1, Mitarnun W, Puttawibul P. Absence of epstein-barr virus in esophageal squamous cell carcinoma. Dis Esophagus. 2005;18(6):398-9.

17.Yahyapour Y, Sadeghi F, Alizadeh A , Rajabnia R, Siadati S. Detection of merkel cell polyomavirus and human papillomavirus in esophageal squamous cell carcinomas and non-cancerous esophageal samples in northern Iran. Pathol Oncol Res. 2016;22(4):667-72.

18.Ahmedin J, Rebecca S, Jiaquan Xu, Elizabeth W. Cancer statistics, 2010. CA Cancer J Clin. 2010,60(5):277-300.

19.Gholipour M, Islami F, Roshandel Gh, Khoshnia M, Badakhshan A, Moradi A, et al. Esophageal cancer in golestan province, Iran: a review of genetic susceptibility and environmental risk factors. Mid East J Dig Dis. 2016;8(4):249-66.

20.Fukayama M1, Hino R, Uozaki H. Epstein-barr virus and gastric carcinoma: virus-host interactions leading to carcinoma. Cancer Sci. 2008;99(9):1726-33.

[DOR: 20.1001.1.15614107.1395.19.1.9.6]
[DOI: 10.22088/jbums.19.1.61]

21.Chen PC1, Pan CC, Hsu WH, Ka HJ, Yang AH. Epstein-Barr virus-associated lymphoepithelioma-like carcinoma of the esophagus. Hum Pathol. 2003l;34(4):407-11.
22.Jenkins TD1, Nakagawa H, Rustgi AK. The association of Epstein-Barr virus DNA with esophageal squamous cell carcinoma. Oncogene. 1996;13(8):1809-13.
23.Wang, L.S., et al., Detection of Epstein-Barr virus in esophageal squamous cell carcinoma in Taiwan. Am J Gastroenterol, 1999. 94(10): p. 2834-9.
24.Awerkiew S1, Bollschweiler E, Metzger R, Schneider PM, Hölscher AH, Pfister H. Esophageal cancer in Germany is associated with Epstein-Barr-virus but not with papillomaviruses. Med Microbiol Immunol. 2003;192(3):137-40.
25.Sedaghat Y, Elahi E, Raii M. DNA extracted from pathology slides of esophageal cancer samples to verify infection with Epstein-Barr virus by PCR. [MSc Thesis]. Tehran: Faculty Sciences of Tehran University. 2000.
26.Hagshenas M, Rafiee A, Zabihian F. Reporting frequency of Epstein-Barr virus (EBV) in blocks of biopsies of esophageal cancer in the province of Mazandaran and Golestan in 2008. Iran J Med Microbiol. 2009;3(1):43-8.[In Persian].
27.Awerkiew S1, zur Hausen A, Baldus SE, Hölscher AH, Sidorenko SI, Kutsev SI, Pfister HJ. Presence of epstein-barr virus in esophageal cancer is restricted to tumor infiltrating lymphocytes. Med Microbiol Immunol. 2005;194(4):187-91.
28.Yanai H1, Hirano A, Matsusaki K, Kawano T, Miura O, Yoshida T, Okita K, et al. Epstein-Barr virus association is rare in esophageal squamous cell carcinoma. Int J Gastrointest Cancer. 2003;33(2-3):165-70.
29.Hong T, Shimada Y, Kano M, Kaganoi J, Uchida S, Komoto I, et al. The Epstein-Barr virus is rarely associated with esophageal cancer. Int J Mol Med. 2000;5(4):363-8.
30.Khurshid A, Kazuya N, Hanae I, Manabu I. Infection of human papillomavirus (HPV) and Epstein-Barr virus (EBV) and p53 expression in human esophageal carcinoma. J Pak Med Assoc. 1998;48(5):138-42.
31.Kijima Y, Hokita S, Takao S, Baba M, Natsugoe S, Yoshinaka H, et al., Epstein-Barr virus involvement is mainly restricted to lymphoepithelial type of gastric carcinoma among various epithelial neoplasms. J Med Virol. 2001;64(4):513-8.
32.Wang J, Noffsinger, Stemmermann G, Fenoglio-Preiser C. Esophageal squamous cell carcinomas arising in patients from a high-risk area of North China lack an association with Epstein-Barr virus. Cancer Epidemiol Biomarkers Prev.1999;8(12):1111-4.

[DOR: 20.1001.1.15614107.1395.19.1.9.6]
[DOI: 10.22088/jbums.19.1.61]