مقاله تحقیقی

مجله دانشگاه علوم پزشکی بابل
دوره بیستم، شمارهٔ ۷، تیر ۱۳۹۷، صفحه ۳۹-۳۳

جهش T375C ژن FGFR3 در سلول های اپی تلیال ادراری بیماران مبتلا به سرطان مثانه

مریم نجف‌پور پیتکا (MSc)[۱]، حمید شافی (MD)[۲]، علی ناظمی (PhD)[۱*]

۱- گروه ژنتیک، واحد تنکابن، دانشگاه آزاد اسلامی تنکابن، تنکابن، ایران
۲- مرکز تحقیقات سرطان، پژوهشکده سلامت، دانشگاه علوم پزشکی بابل، بابل، ایران

دریافت: ۹۶/۱۰/۲، اصلاح: ۹۶/۱۲/۱۴، پذیرش: ۹۷/۳/۵

خلاصه

سابقه و هدف: ژن FGFR3 نقش مهمی در تنظیم رشد، تمایز و رگ زایی دارد. تغییرات ژنتیکی ژن FGFR3 یکی از عوامل موثر در ابتلا به سرطان مثانه می باشد. جهش های فعال FGFR3 در حدود ۷۰٪ از تومورهای مثانه غیرمهاجم به عضله مشاهده شده است. هدف از این مطالعه بررسی ارتباط جهش T375C ژن FGFR3 در DNA ژنومی استخراجی از اپی تلیال ادرار و خطر سرطان مثانه می باشد.

مواد و روش‌ها: در این مطالعه مورد-شاهدی، تعداد ۱۰۰ فرد سالم و ۱۰۰ نفر از بیماران مبتلا به سرطان مثانه که به مراکز درمانی شمال ایران مراجعه کرده بودند، پس از تایید تشخیص این بیماری طی بررسی های پاتولوژی نمونه بیوپسی، به روش آسان انتخاب شدند و برای تفاوت در فراوانی اللی و ژنوتیپی مورد بررسی قرار گرفتند. پس از سانتریفیوژ ادرار، DNA ژنومی از رسوب سلولی با استفاده از کیت تجاری استخراج شد. جایگاه جهش T375C ژن FGFR3 با استفاده از پرایمر های اختصاصی و تکنیک tetra ARMS-PCR مورد بررسی قرار گرفت.

یافته ها: فراوانی ژنوتیپ ها در گروه بیماران به ترتیب۹۴٪ TT، ۴٪ TC و ۲٪ CC در مقابل عدم حضور ژنوتیپ TC و CC در گروه کنترل بود. از لحاظ اماری بین دو گروه از نظر توزیع اللی و ژنوتیپی رابطه معنی داری وجود داشت (به ترتیب p=۰/۰۱۲۴ و p=۰/۰۱۹۲).

نتیجه گیری: نتایج نشان داد جهش T375C ژن FGFR3 ممکن است یک عامل ژنتیکی مستعد کننده به سرطان مثانه باشد.

واژه های کلیدی: پروتئین FGFR3، تغییرات ژنتیکی، سرطان مثانه.

مقدمه

سرطان مثانه چهارمین سرطان رایج در مردان و نهمین سرطان رایج در زنان است (۱). همچنین دومین سرطان شایع دستگاه ادراری و تناسلی محسوب می شود (۲). حدود ۷۰٪ از موارد سرطان مثانه، غیرمهاجم به عضله (Non muscle invasive) و ۳۰٪ باقی مانده، تومورهای مهاجم به عضله(Muscle invasive) هستند(۳). مهم ترین عوامل خطری که تاکنون برای سرطان مثانه شناخته شده اند، شامل سیگار و مواجه شغلی با بعضی مواد شیمیایی از جمله امین های اروماتیک می باشد (۴). بیماران سرطان مثانه از طریق سیتولوژی ادرار، سونوگرافی کلیه و سیستوسکوپی تشخیص داده می شوند (۵). میزان بالای عود مجدد در بیماران مبتلا به سرطان مثانه غیر مهاجم به عضله (NMIBC) و خطر پیشرفت به سرطان مثانه مهاجم به عضله (MIBC) مستلزم نظارت مکرر است(۶). نیاز به ویزیت و معاینات پی در پی بیمارستانی، هزینه های بالا و استفاده از روش های تهاجمی، این سرطان را به پرهزینه ترین سرطان از لحاظ درمانی تبدیل می کند (۷). برای بهبود این وضعیت در دورانی که به اصطلاح بیوپسی مایع نامیده می شود (۸) پژوهش ها بر توسعه تست هایی که به طور خاص برای تشخیص تغییرات مولکولی به کار می رود و در این گروه از بیماران بسیار رایج است تمرکز دارد (۹). بیومارکرهای ادراری مبتنی بر ژن حساسیت بیشتری نسبت به تشخیص مبتنی بر ادرار دارند. زیرا آنها تغییرات مربوط به سرطان را تشخیص می دهند که کمتر احتمال دارد تحت تاثیر شرایط التهابی و سایر بیماری های خوش خیم قرار گیرند. علاوه بر این به راحتی در دسترس هستند و تهاجمی نمی‌باشند (۳). بنابراین تست های غیرتهاجمی برای سرطان مثانه و سایر سرطان ها منجر به بهبود مدیریت بیماری با کاهش ناراحتی های مرتبط با روش های تهاجمی و شناسایی زودهنگام بیماران می شود. سرطان مثانه به طور معمول ارثی نیست بلکه به دلیل تجمع جهش های سوماتیک در سلول‌های مثانه در طول زمان ایجاد می‌شود (۱۰). شناسایی تغییرات ژنتیکی در کارسینوم مثانه، در درک ما از پاتوژنز این بیماری مهم است و در طراحی راهبردهای بهبود یافته برای پیشگیری، تشخیص، پیش آگهی و درمان مفید خواهد بود. از جمله ژن هایی که در تومورزایی سرطان مثانه نقش دارند FGFR3، HRAS و TERT می باشد. که از این میان FGFR3 یکی از فراوان‌ترین ژن‌های جهش یافته در سرطان مثانه است (۱۱). انکوژن FGFR3

▣ این مقاله حاصل پایان نامه مریم نجف پور پیتکا دانشجوی کارشناسی ارشد رشته ژنتیک دانشگاه آزاد اسلامی واحد تنکابن می باشد.

* مسئول مقاله: دکتر علی ناظمی
آدرس: تنکابن، ولی آباد، دانشگاه آزاد اسلامی واحد تنکابن، گروه زیست شناسی. تلفن: ۰۱۱-۵۴۲۷۱۱۰۵
E-mail: alinazemi@yahoo.com

[DOR: 20.1001.1.15614107.1397.20.7.5.5]
[DOI: 10.18869/acadpub.jbums.20.7.33]

یک گیرنده فاکتور رشد تیروزین کینازی با جهش های مکرر(۷۰٪-۶۰٪) در سرطان مثانه غیر مهاجم به عضله و جهش هایی با فراوانی کمتر(۲۰٪-۰/۲٪) در سرطان مثانه مهاجم به عضله است (۱۲). مکانیسم های به هم تابیدن mRNA نیز ایزوفورم های متفاوت گیرنده شامل FGFR3b و FGFR3c را تولید می کند(۱). جهش های فعال FGFR3 در حدود ۷۵٪ از تومورهای پاپیلری مثانه مشاهده شده است(۱۳).

مطالعات اخیر ارتباط بین جهش FGFR3 در تومورهای پاپیلری غیر مهاجم به عضله درجه پایین (LG-NMIBC) با خطر بالای عود مجدد را نشان می دهد (۱۴). بدیهی است که FGFR3 نقش مهمی در توسعه تومورهای مثانه غیر مهاجم به عضله درجه پایین (LG-NMIBC) دارد. اگرچه پیامدهای فنوتیپی جهش FGFR3و جزئیات مربوط به پیامدهای سیگنالینگ گیرنده فعال در یوروتلیوم در حال حاضر ناشناخته است اما پیش بینی شده است که این گیرنده نقش مهمی را به عنوان بیومارکر و هدف درمانی دارد (۷). FGFR3 با تنظیم رشد، تمایز، مهاجرت، بهبود زخم و آنژیوژنز مرتبط است (۱۵).

این ژن روی کروموزوم 4p16 قرار دارد و دارای ۱۹ اگزون و ۱۸ اینترون می باشد (۱۶). این پروتئین در انواع مختلفی از بیماری‌ها مانند آکندروپلازیا، بیماری های پوستی، سرطان مثانه، سرطان گردنه رحم، میلوما و ناهنجاری های رشد غضروف شرکت می کند (۱۷). جهش های سوماتیک ژنتیکی یکی از مهمترین عوامل پیش برنده تومورزایی و پیشرفت سرطان مثانه است(۱۸). جهش های فعال FGFR3 و بیان بیش از حد گیرنده نوع وحشی، دو مکانیسم مرتبط با تومورزایی یوروتلیال هستند(۱۹). جهش های FGFR3 مسیر کیناز RAS-MAP (RAS-MAPK) و فسفولیپاز CY (PLCY) را فعال می کند و منجر به تکثیر سلولی کنترل نشده می شود (۲۰). ۹۷٪ از جهش های فعال FGFR3 در سرطان مثانه در اگزون های ۷، ۱۰ و ۱۵ رخ می دهد. جهش های اگزون ۷ یا ۱۰ باعث دایمریزاسیون و فعال سازی مستقل از لیگاند ایجاد می‌شود(۱۵).

جهش شایع در اگزون ۷ و ۱۰، S249C (۶۱٪)، T375C (۱۹٪)، R248C (۸٪) و G370C (۶٪) است(۲۱). جهش در اگزون ۷ و ۱۰ به ترتیب منجر به تغییرات در ناحیه خارج سلولی و ناحیه ترنس ممبرین می شود(۲۲). نتایج مطالعه ای در دانمارک نشان که داد افزایش FGFR3 جهش یافته در DNA ادرار و پلاسما نشان دهنده پیشرفت و متاستاز در سرطان مثانه است. همچنین از ۶۵ نمونه تومور مورد بررسی در مطالعه آنها ۶ مورد حاوی جهش T375C بودند (۲۳). در بررسی های گروهی در آمریکا جهش های ژن FGFR3 در ۶۴٪ از نمونه های تومور اولیه مثانه مشاهده شد و جهش T375C در ۲۷ مورد از ۲۵۷ نمونه سرطان مثانه رخ داده بود. نتایج ان ها نشان داد می توان از ژن FGFR3 به عنوان بیومارکر و هدف درمانی استفاده کرد(۲۴). با توجه به نقش FGFR3 در توسعه تومور و اهمیت استفاده از روش های غیر تهاجمی این مطالعه به منظور بررسی بررسی جهش T375C ژن FGFR3 در سلول های اپی تلیال ادراری بیماران مبتلا به سرطان مثانه انجام گردید.

مواد و روش‌ها

این مطالعه مورد–شاهدی پس از تصویب در کمیته اخلاق دانشگاه آزاد اسلامی واحد رشت با کد اخلاق IR.IAU.RASHT.REC.۱۳۹۶.۱۳۰ بر روی ۱۰۰ فرد سالم (به عنوان کنترل) و ۱۰۰ بیمار مبتلا به سرطان مثانه، مراجعه کننده به بیمارستان های شهید بهشتی بابل، رازی رشت و امام ساری به روش آسان انتخاب شدند، انجام گردید. معیارهای ورود به مطالعه شامل سیتولوژی ادرار، تشخیص توده در مثانه توسط سونوگرافی در بیماران، عدم انجام پروسه‌های مهاجم از قبیل بیوپسی یا اعمال جراحی در طی یک ماه قبل از نمونه گیری عدم ابتلا به بیماری مزمن و یا بدخیم دیگر و عدم دریافت درمان هایی از قبیل شیمی درمانی یا رادیوتراپی بوده است.

نمونه های ادرار، طی بازه زمانی شش ماهه از اسفند ۱۳۹۵ الی مرداد ۱۳۹۶ پس از اخذ رضایت نامه کتبی از افراد مورد ازمون جمع آوری شد. جمع آوری نمونه های ادرار بیماران قبل از عمل جراحی انجام پذیرفت. هم زمان فرم جمع آوری اطلاعات نیز در اختیار افراد مورد ازمون قرار گرفته و تکمیل گشت. دراین فرم اطلاعاتی از قبیل علایم بیماری، سابقه بیماری های قبلی وارد شد. از بین نمونه های جمع آوری شده، تنها نمونه هایی که در بررسی های پاتولوژی به دنبال نمونه برداری بافتی (بیوپسی) تشخیص سرطان مثانه در آنها تایید گردید، بررسی شد. نمونه ها با توجه به جواب پاتولوژی اخذ شده از مراکز پاتولوژی بر اساس عمق تهاجم، درجه تهاجم، سن و جنس طبقه بندی شدند. پس از جمع آوری، نمونه های ادرار (۲۰-۵۰ میلی لیتر) ۵۰۰۰ rpm و به مدت ۱۰ دقیقه سانتریفیوژ شدند، سپس محلول رویی دور ریخته و به رسوبشان ۵۰۰ میکرولیتر اتانول ۷۰٪ اضافه شد و به فریزر ۲۰- درجه سانتی گراد برای انجام آزمایشات بعدی و مطالعات ژنتیکی منتقل گردید. استخراج DNA از رسوب سلولی ادرار توسط کیت شرکت ZPZ، مطابق با پروتکل شرکت انجام پذیرفت. به منظور ارزیابی کمی DNA استخراجی، از بایوفتومتر استفاده شد و جهت ارزیابی کیفی، DNA استخراجی روی ژل اگارز ۱٪ الکتروفورز گردید. برای بررسی جهش T375C ژن FGFR3 از روش tetra primer PCR استفاده شد. در این روش چهار اغازگر به کار می رود. طراحی آغازگرهای مورد استفاده در این پژوهش با کمک نرم افزار oligoanalayzer انجام شد و آغازگرها توسط شرکت کپنهاگن سنتز شدند. همچنین خصوصیات پرایمرها و دمای ذوب ان ها توسط برنامه BLAST مورد ارزیابی قرار گرفت. توالی پرایمرهای طراحی شده جهت تعیین ژنوتیپ ناحیه rs: ۱۲۱۳۱۹۴۸۵ در جدول ۱ آمده است.

جدول۱. توالی پرایمرهای مورد استفاده جهت تکثیر کدون ۳۷۵ اگزون ده ژن FGFR3

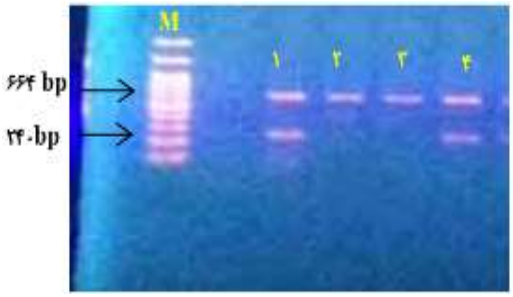
طول محصول	توالی پرایمر (′۵ به ′۳)		کدون
۲۴۰bp	F: TCTGGCCCTCTAGACTCAC R: CGTAGCTGAGGATGCCTGAAC	پرایمر داخلی	۳۷۵ rs:۱۲۱۹۱۳۴۸۵
۶۶۴bp	F: TTCTCTCCTTGCACAACGTCA R: CGTAGCTGAGGATGCCTGAAT	پرایمر خارجی	

[DOR: 20.1001.1.15614107.1397.20.7.5.5]
[DOI: 10.18869/acadpub.jbums.20.7.33]

هر ویال از واکنش PCR در حجم نهایی ۲۵ میکرولیتری شامل ۵ میکرولیتر از DNA ژنومی، ۱۲/۵ میکرولیتر مستر میکس (شرکت AMPLICON)، ۶/۵ میکرولیتر آب مقطر استریل و یک میکرولیتر مخلوط آغازگر پیشین و پسین تهیه گردید. سپس واکنش زنجیره ای پلیمراز با استفاده از دستگاه BioRAD انجام پذیرفت. شرایط بهینه PCR برای جهش T375C نیز شامل یک واسرشت شدن اولیه دو رشته در ۹۵ درجه سانتیگراد به مدت ۴ دقیقه، با تعداد ۳۰ سیکل انجام شد که هر کدام شامل ۴۵ ثانیه واسرشت شدن در ۹۵ درجه سانتیگراد، ۳۵ ثانیه اتصال پرایمر در ۶۰ درجه سانتیگراد، ۱ دقیقه ساخته شدن رشته مکمل (extention) به دنبال پرایمرها در ۷۲ درجه سانتی گراد و سپس در پایان واکنش، ۵ دقیقه ساخته شدن رشته مکمل در ۷۲ درجه سانتی گراد انجام شد. محصولات PCR به دست آمده در فریزر منفی ۲۰ درجه سانتیگراد برای آنالیز های بعدی نگهداری شدند. به منظور بررسی فراوانی اللی و ژنوتیپی و سپس ارتباط پیوستگی ژنوتیپی با مدل‌های وراثتی از نرم افزار Medcalc نسخه ۱۵/۸ و آزمون آماری کای دو استفاده شد. همچنین $p<۰/۰۵$ معنی دار در نظر گرفته شد.

یافته ها

در این مطالعه از ۱۰۰ فرد مبتلا به سرطان مثانه تعداد ۸۹ نفر (۸۹٪) مرد و ۱۱ نفر (۱۱٪) زن با میانگین سنی ۲۱/۵±۶۱/۵ سال بودند. در ۱۰۰ نفر شاهد ۶۵ نفر (۶۵٪) مرد و ۳۵ نفر (۳۵٪) زن با میانگین سنی ۱۵/۵±۵۳ سال شرکت داشتند. در گروه بیماران بر اساس درجه بندی تومور ۸۱ نفر (۸۱٪) دارای تومور درجه ۱، ۱۰ نفر (۱۰٪) درجه ۲ و ۹ نفر (۹٪) درجه ۳ بودند. همچنین ۹۶ نفر (۹۶٪) دارای تومور غیر مهاجم به عضله و ۴ نفر (۴٪) مهاجم به عضله بودند (جدول ۲). شناسایی الل T با تکثیر قطعه ای به طول ۶۶۴ جفت باز و الل C با قطعه ای به طول ۲۴۰ جفت باز در ژل اگارز ۱/۵ درصد صورت گرفت (شکل ۱).



شکل ۱. نتایج حاصل از PCR جهش T375C در نمونه های ۱، ۲، ۳، ۴ روی ژل اگارز ۱/۵ درصد. M مارکر DNA (۱۰۰ جفت بازی) می باشد. فلش محل قطعه تکثیر شده را نشان می دهد

پس از تجزیه و تحلیل داده‌های حاصل از واکنش PCR مشخص گردید ۶ مورد (۶٪) از نمونه های بیماران دارای جهش T375C هستند که این جهش ها فقط در مردان مشاهده شد. همچنین این جهش ها در نمونه های غیر مهاجم به عضله حضور داشتند. جهش مذکور در گروه سالم مشاهده نشد (جدول ۲). از ۱۰۰ نفر بیمار مبتلا به سرطان مثانه در این تحقیق ۹۴ نفر (۹۴٪) ژنوتیپ هموزیگوت TT، ۴ نفر (۴٪) ژنوتیپ هتروزیگوت TC و ۲ نفر (۲٪) ژنوتیپ هموزیگوت CC بودند. در گروه کنترل همه ۱۰۰ نفر (۱۰۰٪) دارای ژنوتیپ هموزیگوت TT بودند.

نتایج حاصل از نرم افزار Medcalc نشان داد ارتباط معنی‌داری از نظر آماری بین دو گروه مورد و شاهد از نظر ژنوتیپی وجود دارد ($p=۰/۰۱۹۲$). در افراد سالم و بیمار فراوانی الل T به ترتیب ۱۰۰٪ و ۹۶٪ بوده و الل C تنها در گروه بیماران با فراوانی ۴٪ حضور داشت. بین دو گروه از نظر توزیع اللی ارتباط معنی‌داری وجود داشت ($p=۰/۰۱۲۴$)(جدول ۳).

جدول ۲. نتایج حاصل از جامعه مورد مطالعه

	N	T375C	زن	مرد
بیمار	۱۰۰	۶	۱۱	۸۹
کنترل	۱۰۰	۰	۳۵	۶۵
غیر مهاجم به عضله	۹۶	۶	۱۰	۸۶
مهاجم به عضله	۴	–	۱	۳
مرحله بندی				
Grade 1	۷۱	۵	۱۰	۷۱
Grade2	۲۰	۱	۱	۹
Grade3	۹	–	–	۹

جدول ۳. تحلیل پیوستگی ژنوتیپی و اللی موتاسیون T375C ژن FGFR3 بین گروه سالم و گروه مبتلایان به سرطان مثانه

ژنوتیپ	بیماران تعداد(درصد)	کنترل سالم تعداد(درصد)	P-value
TT	۹۴(۹۴)	۱۰۰(۱۰۰)	۰/۰۴۷
TC	۴(۴)	۰	۰/۱۴۰
CC	۲(۲)	۰	۰/۲۱۳
الل			
T	۱۹۲(۹۶)	۲۰۰(۱۰۰)	
C	۸(۴)	۰	۰/۰۴۸

بحث و نتیجه گیری

نتایج حاصل از بررسی های انجام شده حضور ۶ جهش را در کدون ۳۷۵ اگزون ۱۰ ژن FGFR3 در گروه بیماران مشخص کرد. ۶ جهش مشاهده شده منجر به تغییر اسید آمینه تیروزین به گلایسین می شود. همچنین نتایج حاصل از بررسی های آماری نشان داد فراوانی ژنوتیپی و اللی جایگاه جهش rs:۱۲۱۹۱۳۴۸۵ بین گروه کنترل و بیمار ارتباط معنی داری دارد (به ترتیب $p=۰/۰۱۹۲$، $p=۰/۰۱۲۴$). براساس یافته های موجود این مطالعه اولین پژوهش در زمینه بررسی جهش T375C ژن FGFR3 در بیماران مبتلا به سرطان مثانه در جمعت ایرانی می باشد. Dodurga و همکاران بروز جهش‌های FGFR3 واقع در اگزون ۷ و ۱۰ را بررسی کرده و گزارش دادند که جهش FGFR3 در ۳ مورد از ۵۶ نمونه سرطان مثانه در کدون T375C رخ داده است (۱). همچنین در مطالعه ای در آمریکا Gust و همکاران نیز جهش و وضعیت بیان FGFR3 را در نمونه های تومور مثانه به روش Real Time PCR و وسترن بلات بررسی کردند که از ۱۵۳ نمونه بافت در ۷ مورد جهش T375C رخ داده بود (۲). در کانادا نیز Van Rhijn و همکاران در یکی از مطالعات که خود فراوانی جهش های FGFR3 را

[DOR: 20.1001.1.15614107.1397.20.7.5.5]
[DOI: 10.18869/acadpub.jbums.20.7.33]

در ۱۳۲ نمونه بافت تومور مثانه اولیه PT1 به روش SNaPshot مورد بررسی قرار دادند، فراوان ترین جهش در مطالعه آنها S249C بوده و جهش T375C در ۵ نمونه مشاهده شد(۲۵). همچنین در کانادا Kompier و همکاران جهش های FGFR3 را در ۲۵۷ نمونه بافت توموری بیماران مبتلا به سرطان مثانه به روش SNaPshot بررسی کردند و در ۲۷ نمونه، جهش T375C یافت شد(۲۶). در ژاپن Miyake و همکاران جهش‌های FGFR3 را در۴۵ نمونه بافت تومور مثانه به روش real time PCR مورد بررسی قرار دادند و جهش های FGFR3 در کدون T375C در ۹ مورد (۳۷/۵٪) رخ داده بود (۲۷). این اختلافات در میزان شیوع جهش می تواند به دلیل استخراج DNA از نمونه های متفاوت، تفاوت در اندازه جمعیت مورد مطالعه، روش های مختلف نمونه گیری و تکنیک های مختلف آنالیزی باشد. همچنین در یافته‌های Traczyk-Borszynska و همکاران در لهستان فراوان ترین جهش FGFR3، S249C و پس از ان T375C بوده است (۲۸).

از طرفی فراوانترین جهش FGFR3 شناسایی شده در مطالعه‌ای که توسط Guancial و همکاران در آمریکا انجام گردید T375C و پس از آن R248C بوده، درحالیکه سایر مطالعات S249C را به عنوان فراوانترین جهش FGFR3 شناسایی شده به همراه فراوانی کمتر T375C گزارش داده‌اند (۲۹). احتمالا تغییرات در زیست شناسی تومور توسط تغییر در مرحله یا درجه، مطالعه جمعیت های مختلف قومی و جغرافیایی، تفاوت در سبک زندگی، الگوهای تولید مثلی و عادات غذایی برخی از این اختلافات را در بر داشته است. نتایج حاصل از این تحقیق نشان داد که جهش T375C ژن FGFR3 با سرطان مثانه ارتباط معنی داری دارد و احتمالا در استعداد ابتلا به سرطان مثانه نقش دارد. اگرچه، حصول نتیجه قطعی نیازمند مطالعات با جامعه آماری بزرگتر و سایر جمعیت است. همچنین به منظور ارزیابی نقش دقیق تر این ژن در کارسینوژنز مثانه بررسی سایر SNP های ژن FGFR3 موثر در سرطان مثانه و نیز بررسی جهش‌های FGFR3 در جمعیت های بزرگتر و گروه های نژادی مختلف پیشنهاد می شود.

تقدیر و تشکر

بدینوسیله از همکاری پرسنل محترم آزمایشگاه های ولیعصر و فیروزجاهی بابل، رازی رشت و آزمایشگاه بیمارستان امام(ره) ساری و همچنین کلیه شرکت کنندگان در این تحقیق، تقدیر و تشکر می گردد.

[DOR: 20.1001.1.15614107.1397.20.7.5.5]
[DOI: 10.18869/acadpub.jbums.20.7.33]

T375c Mutation of FGFR3 Gene in Bladder Epithelial Cells of Patients with Bladder Cancer

M. Najafpour Pitka (MSc)[1], H. Shafi (MD)[2], A. Nazemi (PhD)[1*]

1. Department of Genetics, Tonekabon Branch, Islamic Azad University, Tonekabon, I.R. Iran
2. Cancer Research Center, Health Research Institute, Babol University of Medical Sciences, Babol I.R. Iran

J Babol Univ Med Sci; 20(7); July 2018; PP:33-9
Received: Dec 23rd 2017, Revised: Mar 5th 2018, Accepted: May 26th 2018.

ABSTRACT

BACKGROUND AND AIM: The FGFR3 gene plays an important role in regulating growth, differentiation and angiogenesis. The genetic changes of the FGFR3 gene are one of the most important factors in bladder cancer. Active mutations of FGFR3 have been observed in about 70% of non-muscle-invasive bladder cancers. The present study was conducted to evaluate T375C mutation of FGFR3 gene in genomic DNA extracted from bladder epithelial cells and the risk of bladder cancer.

METHODS: In this case-control study, 100 healthy individuals and 100 patients with bladder cancer who referred to health centers in northern Iran were selected using convenience sampling after confirmation of the diagnosis of this disease after pathological examinations of the biopsy. Differences in the frequency of allele and genotype were evaluated. After urine centrifugation, genomic DNA was extracted from cell precipitate using commercial kit. The status of T375C mutation of FGFR3 gene was studied using specific primers and tetra-ARMS-PCR technique.

FINDINGS: The frequency of genotypes was 94% (TT), 4% (TC) and 2% (CC) in the case group versus the absence of the TC and CC genotypes in the control group. There was a significant relationship between allelic and genotypic distribution (p = 0.0124 and p = 0.0192, respectively).

CONCLUSION: The results indicate that the T375C mutation of the FGFR3 gene may be a genetic susceptibility factor to bladder cancer.

KEY WORDS: *FGFR3 protein, genetic changes, bladder cancer.*

Please cite this article as follows:

Najafpour Pitka M, Shafi H, Nazemi A. T375c Mutation of FGFR3 Gene in Bladder Epithelial Cells of Patients with Bladder Cancer. J Babol Univ Med Sci. 2018;20(7):33-9.

[*] **Corresponding Author: A. Nazemi (PhD)**
Address: Department of Genetics, Tonekabon Branch, Islamic Azad University, Vali Abad, Tonekabon, I.R.Iran
Tel: +98 11 54271105
E-mail: alinazemi@yahoo.com

[DOR: 20.1001.1.15614107.1397.20.7.5.5]
[DOI: 10.18869/acadpub.jbums.20.7.33]

References

1.Dodurga Y, Tataroglu C, Kesen Z, Satiroglu-Tufan NL. Incidence of fibroblast growth factor receptor 3 gene (FGFR3) A248C, S249C, G372C, and T375C mutations in bladder cancer. Genet Mol Res. 2011;10(1):86-95.

2.Gust KM, McConkey DJ, Awrey S, Hegarty PK, Qing J, Bondaruk J, et al. Black. Fibroblast Growth Factor Receptor 3 is a Rational Therapeutic Target in Bladder Cancer. Mol Cancer Ther. 2013; 12(7): 1245-54.

3.Critelli R, Fasanelli F, Oderda M, Polidoro S, Assumma MB, Viberti C, et al. Detection of multiple mutations in urinary exfoliated cells from male bladder cancer patients at diagnosis and during follow-up. Oncotarget. 2016, 7(41):67435-48.

4.Shafi H, Ali Ramaji A, Akbarzadeh Pasha A, Yousefnia Pasha Y, Kasayan A, Aghajanimir M, et al. A Survey on 175 Cases of Bladder Cancer in the Patients Who Referred to the Hospitals Affiliated to Babol University of Medical Sciences, Iran (2001-2011). J Babo Univ Med Sci. 2013; 15(2):116-22. [In Persian]

5.Shafi H, Bijani A, Rahimi M, Amani n. Hematuria in urologic patients. J Babol Univ Med Sci. 2014; 16(12):62-8. [In Persian]

6.Mbeutcha A, Lucca I, Mathieu R, Lotan Y, Shariat SF. Current Status of Urinary Biomarkers for Detection and Surveillance of Bladder Cancer. Urol Clin North Am. 2016; 43:47-62.

7.Knowles MA. Role of FGFR3 in Urothelial Cell Carcinoma: Biomarker and Potential Therapeutic Target. World J Urol. 2007; 25(6):581-93.

8.Matullo G, Naccarati A, Pardini B. MicroRNA expression profiling in bladder cancer: The challenge of Next Generation Sequencing in tissues and biofluids. Int J Cancer. 2016;138(10):2334-45.

9.Knowles MA. Molecular subtypes of bladder cancer: Jekyll and Hyde or chalk and cheese? Carcinogenesis. 2006; 27(3):361-73.

10.Weinberg RA. The Biology of Cancer. New York: Garland Science; 2006.p. 850.

11.11. Ward DG, Baxter L, Gordon NS, Ott S, Savage RS, Beggs AD, et al. Multiplex PCR and Next Generation Sequencing for the Non-Invasive Detection of Bladder Cancer. PLoS One. 2016; 11(2):e0149756.

12.Knowles MA, Hurst CD. Molecular biology of bladder cancer: new insights into pathogenesis and clinical diversity. Nat Rev Cancer. 2015; 15(1):25-41.

13.Rebouissou S, Herault A, Letouze E, Neuzillet Y, Laplanche A, Ofualuka K, et al. CDKN2A homozygous deletion is associated with muscle invasion in FGFR3mutated urothelial bladder carcinoma. J Pathol. 2012; 227(3):315-24.

14.Ploussard G, Soliman H, Dubosq F, Francis Dubosq, Paul Méria, Jérôme Vérine, et al. The prognostic value of FGFR3 mutational status for disease recurrence and progression depends on allelic losses at 9p22. Am J Cancer Res.2011; 1(4), 498-507.

15.Karoui M, Hofmann-Radvanyi H, Zimmermann U, Couvelard A, Degott C, Faridoni-Laurens L, et al. No evidence of somatic FGFR3 mutation in various types of carcinoma. Oncogene. 2001; 20, 5059-61.

16.Zhou L, Yao LT, Liang ZY, Zhou WX, You L, Shao QQ, et al. Nuclear translocation of fibroblast growth factor receptor 3 and its significance in pancreatic cancer. Int J Clin Exp Pathol. 2015; 8(11):14640-8.

17.Foldynova-Trantirkova S, Wilcox WR, Krejci P. Sixteen years and counting: the current understanding of fibroblast growth factor receptor 3 (FGFR3) signaling in skeletal dysplasias. Hum Mutat. 2012; 33(1), 29-41.

18.Tan G, Wang H, Yuan J, Qin W, Dong X, Wu H, et al. Three serum metabolite signatures for diagnosing low-grade and highgrade bladder cancer. Sci Rep. 2017; 46176.

19.Iyer G, Milowsky MI. Fibroblast growth factor receptor-3 in urothelial tumorigenesis. Urol Oncol. 2013;31(3):303-11.

20.Li H, Duymich C, Weisenberger D, Liang G. Genetic and Epigenetic Alterations in Bladder Cancer. Int Neurourol J. 2016;20(Suppl 2):S84-94.

[DOR: 20.1001.1.15614107.1397.20.7.5.5]
[DOI: 10.18869/acadpub.jbums.20.7.33]

21.Chen F, Degnin C, Laederich M, Horton W.A, Hristova K. The A391E mutation enhances FGFR3 activation in the absence of ligand. Biochim Biophys Acta. 2011;1808(8):2045-50.

22.Tomlinson DC, Baldo O, Harnden P and Knowles MA. FGFR3 protein expression and its relationship to mutation status and prognostic variables in bladder cancer. J Pathol. 2007; 213(1): 91-8.

23.23.Christensen E, Birkenkamp-Demtröder K, Nordentoft I, Høyer S, van der Keur K, van Kessel K, et al. Liquid Biopsy Analysis of FGFR3 and PIK3CA Hotspot Mutations for Disease Surveillance in Bladder Cancer. Eur Urol. 2017; 71(6): 961-9.

24.24.Kompier LC, Lurkin I, van der Aa MN, van Rhijn BW, van der Kwast TH, Zwarthoff EC. FGFR3, HRAS, KRAS, NRAS and PIK3CA Mutations in Bladder Cancer and Their Potential as Biomarkers for Surveillance and Therapy. PLoS One. 2010; 5(11): e13821.

25.van Rhijn BW, van der Kwast TH, Liu L, Fleshner NE, Bostrom PJ, Vis AN, et al. The FGFR3 mutation is related to favorable pT1 bladder cancer. J Urol. 2012; 187(1): 310-4.

26.Kompier LC, van der Aa MN, Lurkin I, Vermeij M, Kirkels WJ, Bangma CH, et al. The development of multiple bladder tumour recurrences in relation to the FGFR3 mutation status of the primary tumour. J Pathol. 2009; 218: 104-112.

27.27.Miyake M, Sugano K, Sugino H, Imai K, Matsumoto E, Maeda K, et al. Fibroblast groth factor receptor 3 mutation in voided urine is a usefu diagnostic mrker and significant indicator of tumor recurrence in non-muscle invasive bladder cancer. Cancer Sci. 2010;101(1):250-8.

28.Traczyk-Borszynska M, Borkowska E, Jablonowski Z, Jedrzejczyk A, Pietrusinski M, Kaluzewski B, et al. Genetic diversity of urinary bladder cancer and the risk of recurrence based on mutation analysis. Neoplasma. 2016;63(6):952-60.

29.Guancial E.A, Werner L, Bellmunt J, Bamias A, Choueiri TK, Ross R, et al. FGFR3 expression in primary and metastatic urothelial carcinoma of the bladder. Cancer Med. 2014; 3(4): 835-44.

[DOR: 20.1001.1.15614107.1397.20.7.5.5]
[DOI: 10.18869/acadpub.jbums.20.7.33]