Downloaded from pejouhesh.sbmu.ac.ir at 2:50 +0330 on Sunday October 20th 2019

پژوهش درپزشکی (مجله پژوهشی دانشکده پزشکی)
دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی درمانی شهید بهشتی
سال ۲۸، شماره ۳، صفحات ۲۰۵ تا ۲۱۰ (پاییز ۸۳)

Original Article

تغییرات بیان ژنهای P53 ، Cyclin-D1 ، RB1 ، c-Fos ، N-ras در هپاتوسلولار کارسینوما در ایران

دکتر سید جواد میرحسنی مقدم، دکتر محمدعلی دانشمند، دکتر نگین شهید، دکتر سعید سمیعی، دکتر نسترن نوروزی، مریم توکلی، دکتر محمدرضا زالی *

* مرکز تحقیقات بیماری‌های گوارش و کبد، دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی

چکیده

سابقه و هدف: *هپاتوسلولار کارسینوما شایع ترین تومور بدخیم اولیه کبد و چهارمین علت مرگ مرتبط با سرطان در جهان می باشد. تأثیر برخی ژن ها به خصوص آنهایی که در تنظیم چرخه سلولی نقش دارند، در ایجاد این سرطان در مطالعات بسیاری به اثبات رسیده است. اما هنوز تناقضاتی در این زمینه وجود دارد. در این مطالعه، ما تغییرات بیان برخی از این ژنها را مورد بررسی قرار دادیم.*

مواد و روشها: *نمونه بافتی پارافینه ۲۵ بیمار (۱۸ مرد و ۷ زن) مبتلا به هپاتوسلولار کارسینوم ثابت شده، از ۲۲ مرکز پاتولوژی در تهران طی ۲ سال (از سال ۱۳۷۹ تا ۱۳۸۰) جمع آوری شدند. با استفاده از روش ایمونوهیستوشیمی (آویدین- بیوتین- پراکسیداز)، این نمونه ها را جهت بررسی از نظر وجود پروتئین های P53، Cyclin-D1 ، RB1 ، c-Fos و N-ras رنگ آمیزی کردیم. نتایج مطالعه به صورت فراوانی و نسبت شانس بیان شدند.*

یافته‌ها: *میانگین ± انحراف معیار سن در بیماران این مطالعه ۱۲/۵ ± ۶۰/۶ سال بود. نمونه های مثبت از نظر وجود پروتئین های P53، RB1، Cyclin-D1، c-Fos و N-ras به ترتیب ۶ مورد (۲۴٪)، ۳ مورد (۱۲٪)، ۵ مورد (۲۰٪)، ۱۲ مورد (۴۸٪) و ۲ مورد (۸٪) بودند. در ۲۲ نمونه (۸۸٪)، تغییراتی در پروتئین های checkpoint فاز G1 چرخه سلولی (RB1 یا Cyclin-D1) وجود داشت. با استفاده از نسبت شانس، مقایسه موارد مثبت P53 با موارد منفی آن نشان داد که گروه اول شانس بیشتری (۹ برابر) برای مثبت بودن ژن RB1 داشتند. این شانس برای N-ras ، c-Fos و Cyclin-D1 به ترتیب ۳/۶ ، ۲/۷۵ و ۲/۶۶ برابر بود. عدم بیان ژنRB1 در تمام موارد مثبت Cyclin-D1، ۲۰ مورد (۹۰،۹٪) N-ras منفی و ۱۱ مورد (۵۰٪) c-Fos مثبت دیده شد. در موارد مثبت Cyclin-D1، شانس مثبت بودن N-Ras، ۴/۷۵ برابر بیشتر از شانس منفی بودن این ژن محاسبه شد.*

نتیجه‌گیری: *با انجام این مطالعه، ما به وجود موتاسیون در برخی ژنها بخصوص ژنهایRB1, P53 و c-Fos و نقش کلیدی آنها در کارسینوژنز هپاتوسلولار کارسینوما در ایران پی بردیم. همچنین ارتباط معنی داری که بین موتاسیون های همزمان این ژنها دیده می شود، می تواند در ایجاد هپاتوسلولار کارسینوما نقش داشته باشد.*

واژگان کلیدی: *هپاتوسلولار کارسینوما، ژنتیک.*

مقدمه

هپاتوسلولار کارسینوما[1] شایع ترین تومور بدخیم اولیه کبد و چهارمین علت مرگ مرتبط با سرطان در جهان می باشد (۱). این بدخیمی هفتمین سرطان شایع در مردان و نهمین در زنان می باشد (۲). البته شیوع بیشتر این بدخیمی در مردان نسبت به زنان در جوامعی که ریسک ابتلا به تومور در آنها بالاست، بیشتر از جوامعی می باشد که ریسک پایین یا متوسط دارند (۳/۷ به ۱ نسبت به ۲/۴ به ۱). HCC دارای پراکندگی جغرافیایی متنوعی می باشد. کشورها یا مناطقی که

[1] Hepatocellular carcinoma (HCC)

Downloaded from pejouhesh.sbmu.ac.ir at 2:50 +0330 on Sunday October 20th 2019

بروز HCC بالایی دارند (۵۰ تا ۱۲۰ مورد در ۱۰۰،۰۰۰ نفر در سال) عبارتند از: چین، تایوان، کره و سایر کشورهای جنوب شرقی آسیا به علاوه نواحی جنوبی صحرای آفریقا. بروز HCC با افزایش سن نسبت مستقیم دارد، البته این نسبت در کشورهای مختلف متفاوت است (۳). در مناطقی که بروز HCC بالاست، این بدخیمی بیشتر در بالغین جوان دیده می شود، در صورتی که در مناطق با ریسک پایین این بدخیمی اغلب در بیماران مسن ایجاد می گردد (۵،۴). مطالعات اپیدمیولوژی متعددی نشان داده اند که ریسک فاکتور اصلی برای HCC عبارتند از: سن، جنس و سیروز با هر اتیولوژی. اما علت اصلی HCC، مصرف بیش از اندازه الکل و/ یا عفونت مزمن با ویروس هپاتیت B یا ویروس هپاتیت C و تماس با آفلاتوکسین می باشد (۶،۴).

احتمالاً ژنهای سرکوب کننده تومور از قبیل RB1 و P53 در ایجاد سرطان کبد نقش مهمی را ایفا می کنند (۳). به نظر می رسد که سیروز کبدی با ایجاد تغییرات ژنتیکی زودرس در سلولها، زمینه مناسبی برای ایجاد تغییرات بدخیمی بوجود می آورد. البته تاکنون مطالعات بسیار کمی در این زمینه انجام شده است. Ashida و همکاران، هم در HCC و هم در سیروز، عدم وجود هتروزیگوتی را به میزان ۶۰٪ در 13q (جایگاه ژن RB1) گزارش نموده اند (۷).

عدم وجود هتروزیگوتی و اختلال در ساختار و عمل ژن P53 ، غالباً در HCC وجود دارد (۸). یک جهش P53 خاص در بیش از ۵۰٪ HCC های یافت شده در هند، چین و آفریقای جنوبی که آفلاتوکسین موجود در رژیم غذایی آنها یک عامل اصلی برای ایجاد سرطان کبد محسوب می شود، دیده شده است (۱۴-۸). البته این جهش خاص در بیماران مبتلا به HCC در کشورهای غربی کمتر اتفاق می افتد (۸،۳). فعال شدن انکوژنهای خانواده ras در طی القای شیمیایی HCC در جوندگان دیده شده است. اما شواهد بسیار اندکی از فعال شدن آنها در تومورهای انسان وجود دارد (۱۵). بیان بیش از اندازه Cyclin-D1 ممکن است یک واقعه زود هنگام در ایجاد بدخیمی کبد باشد و این واقعه نقش مهمی را در تمایز تومور ایفا می نماید (۱۶). Yuen و همکاران، بیان بیش از حد ژن c-Fos در بافتهای تومورال را در مقایسه با بافتهای غیر تومورال مشاهده نموده اند (۱۷).

جهشهای خاصی از ژنهای P53 ، Cyclin-D1، RB1 ، c-Fos، N-ras در هپاتوسلولار کارسینوما از کشورهای مختلف جهان گزارش شده اند؛ اما بر طبق دانسته های نگارندگان این مقاله، تاکنون هیچ مطالعه ای در مورد وضعیت این ژنها در بیماران HCC در ایران که شیوع هپاتیت مزمن ناشی از عفونت های HBV و HCV و تماس با آفلاتوکسین غذایی بالاست، انجام نشده است.

مواد و روشها

نمونه بافتهای فیکس شده در فرمالین و پارافین از ۲۵ بیمار (۱۸ مرد و ۷ زن) مبتلا به هپاتوسلولار کارسینومای قطعی (نمونه بافت تهیه شده حین جراحی یا بیوپسی) برای انجام این مطالعه تهیه شدند. این نمونه ها از ۲۲ مرکز پاتولوژی شهر تهران در طی ۲ سال از ۱۳۷۹ تا ۱۳۸۰ جمع آوری شدند. این مطالعه توسط کمیته اخلاق پزشکی وزارت بهداشت، درمان و آموزش پزشکی بر اساس دستورالعملهای اخلاقی اعلامیه هلسینکی سال ۱۹۷۵، تأیید شد.

از پرونده های بیمارستانی بیماران جهت ثبت سن، جنس و سایر اطلاعات دموگرافیک استفاده شده است.

تهیه بافت

نمونه ها را برش داده و با هماتوکسیلین و ائوزین رنگ آمیزی نمودیم. تشخیص قطعی HCC و درجه تمایز تومورها مجدداً توسط پاتولوژیست های مرکز تحقیقات بیماری های گوارش و کبد، با استفاده از معیارهای پیشنهادی سازمان بهداشت جهانی انجام شد. تومور زمانی برای مطالعه ایمونوهیستوشیمی کافی به حساب می آمد که اندازه بلوکها کافی باشد (سطح مقطع برشها بیش از ۴ سانتیمتر مربع و بیش از ۱۰٪ سطح مقطع بلوک توسط تومور اشغال شده باشد).

رنگ آمیزی ایمونو هیستوشیمیایی

تکنیک مطالعه بر اساس روش آویدین- بیوتین- پراکسیداز با استفاده از برشهای فیکس شده در فرمالدئید ۱۰٪ و پارافین بوده است. ابتدا با گذراندن بافتها از غلظت های مختلف گزیلول و الکل، آنها را دپارافینه کردیم. سپس برای بازیافت آنتی ژنی، بافتها را در دماها و فشارهای متفاوت در محیط حاوی محلول سیترات با PH های مختلف حرارت دادیم. پس از آن با انکوباسیون بافتها در مجاورت محلول پراکسید هیدروژن ۳٪، پراکسیداز بافتی مهار شد. بعد به منظور کاهش رنگ آمیزی غیر اختصاصی، انکوباسیون بافتها در تماس با غلظت های بالای آلبومین سرم گاوی انجام شد. انکوباسیون با آنتی بادی اولیه (پروتئین مونوکلونال موشی ضد انسانی اولیه از شرکت DAKO، Lot 108[p53]، Lot 012[Cyclin-D1] Lot 019[RB1] و شرکت Santa Cruz Biotechnology Inc، Lot I 251 [N-ras]، Lot J 251[c-fos]) ابتدا در تیترهای

Downloaded from pejouhesh.sbmu.ac.ir at 2:50 +0330 on Sunday October 20th 2019

مختلف صورت گرفت و در نهایت برای هر ژن به غلظت خاصی دست یافتیم. سپس انکوباسیون با آنتی بادی ثانویه و نشانه گذاری با HRP (Universal, HRP, Lot 10106) انجام گرفت. پس از رنگ آمیزی نمونه ها با محلول های کروموژن مانند AEC و DAB و رنگ آمیزی زمینه ای با محلول هماتوکسیلین، نمونه ها را در زیر میکروسکوپ نوری مورد بررسی قرار دادیم. قابل ذکر است که در بین هر یک از مراحل فوق شستشوی بافت با بافرهای لازم انجام گرفت. ضمناً برای افزایش حساسیت و اختصاصیت روش فوق و کنترل کیفی نمونه ها در هر دوره رنگ آمیزی، یک نمونه کنترل مثبت و یک نمونه کنترل منفی نیز رنگ آمیزی شدند. نمونه کنترل مثبت ما نمونه بافتی خاصی بود که مطمئن بودیم نسبت به آنتی بادی ها مثبت است. نمونه کنترل منفی همان نمونه بافتی بیمار بود که با آنتی بادی تماس نیافته بود.

ارزیابی رنگ آمیزی ایمونوهیستوشیمیایی

بررسی رنگ آمیزی P53، Cyclin-D1، RB1، c-Fos، N-ras در زیر میکروسکوپ نوری استاندارد با بزرگنمایی ۴۰۰ صورت گرفت. رنگ آمیزی هسته، زمانی مثبت محسوب می شد که رنگ گیری یکنواخت هسته یا رنگ گیری غیر یکنواخت در بیش از ۱۰٪ سلولهای سرطانی دیده شده باشد.

آنالیز آماری

نتایج این مطالعه به صورت فراوانی بیان ژن ها و نسبت شانس برای یافتن ارتباط بین تغییرات بیان این پنج ژن بیان شده است. تمام آزمون های آماری با استفاده از برنامه نرم افزار آماری برای علوم اجتماعی (SPSS 11، شیکاگو، IL) انجام شده است.

یافته‌ها

میانگین±انحراف معیار سن در بیماران این مطالعه ۱۲/۵±۶۰/۶ سال و بیشترین فراوانی سنی در دهه ۶ زندگی بود. نسبت مرد به زن ۲/۵۷ (۱۸ مرد و ۷ زن) بود و میانگین±انحراف معیار سن بیماران در هر جنس به ترتیب ۱۰/۴±۶۲/۷ و ۱۶/۴±۵۵/۰ سال بود.

تمام ۲۵ نمونه، تومورهای با تمایز خوب (درجه تمایز I) بودند. رنگ آمیزی ایمونوهیستوشیمیایی پروتئین های P53، Cyclin-D1، RB1، c-Fos و N-ras در هسته سلولهای بافتها مورد مطالعه قرار گرفت. در کل، ۶ مورد تجمع هسته ای پروتئین P53 با نسبتهای مختلف در سلولهای تومور نشان داده شد، مابقی تومورها منفی بودند.

در مورد تومور اولیه، ۲۲ مورد، عدم بیان کامل پروتئین RB1 را نشان دادند و سایر تومورها به نسبتهای گوناگون، پروتئین RB1 مثبت داشتند. شدت و محل زیر سلولی رنگ آمیزی در سلولهای تومورال، مشابه با آنچه در اپیتلیوم طبیعی دیده می شود، بود.

ما سطوح بالای پروتئین Cyclin-D1 را در ۵ مورد پیدا کردیم، در صورتیکه ۲۰ مورد سلولهای تومورال از نظر بیان پروتئین Cyclin-D1 منفی بودند.

فراوانی رنگ آمیزی مثبت در مورد c-fos و N-ras به ترتیب ۱۲ مورد و ۲ مورد بود.

در این مطالعه، بیان ژن P53 با بیان ژنهای Cyclin-D1، RB1، c-Fos و N-ras مقایسه شدند (جدول ۱). درتمام موارد (۵ مورد) Cyclin-D1 مثبت، عدم بیان ژن RB1 گزارش شد؛ در صورتیکه در موارد Cyclin-D1 منفی، ۳ موردRB1 مثبت و ۱۷ مورد RB1 منفی گزارش شدند. زمانی که بیان بیش از حد P53 در سلولها مشاهده شد، ۴ مورد عدم بیان ژن RB1 وجود داشت. بالاخره در تمام موارد بیان بیش از حد N-ras (۲ مورد)، عدم بیان ژن RB1 مشاهده گردید. در صورتیکه در موارد عدم بیان ژن RB1 ، ۱۱ مورد بیان بیش از حد c-Fos یافت شد.

جدول ۱- مقایسه بیان ژن P53 با بیان ژنهای N-ras, c-fos Cyclin-D1 و RB1

بیان ژنها		P53 مثبت	P53 منفی
RB1	مثبت	(۳۳/۳)۲*	(۵/۳)۱
	منفی	(۶۶/۷)۴	(۹۴/۷)۱۸
Cyclin-D1	مثبت	(۳۳/۳)۲	(۱۵/۸)۳
	منفی	(۶۶/۷)۴	(۸۴/۲)۱۶
c-fos	مثبت	(۶۶/۷)۴	(۴۲/۱)۸
	منفی	(۳۳/۳)۲	(۵۷/۹)۱۱
N-ras	مثبت	(۱۶/۷)۱	(۵/۳)۱
	منفی	(۸۳/۳)۵	(۹۴/۷)۱۸

* اعداد داخل پرانتز معرف درصد هستند

از سه مورد RB1 مثبت یک مورد c-fos مثبت بود و هیچ یک N-ras مثبت نبودند. از ۲۲ مورد RB1 منفی ۱۱ مورد c-fos مثبت و ۲ مورد N-ras مثبت بودند. در مواردیکه c-Fos مثبت گزارش شد، ۱ مورد N-Ras مثبت و ۱۱ مورد N-Ras منفی بودند. از سوی دیگر در موارد c-Fos منفی، ۱ مورد N-Ras مثبت و ۱۲ مورد N-Ras منفی یافت شد.

Downloaded from pejouhesh.sbmu.ac.ir at 2:50 +0330 on Sunday October 20th 2019

با استفاده از نسبت شانس، مقایسه موارد مثبت P53 بـا مـوارد منفی آن نشان داد که گروه اول شانس بیشتری (۹ برابر) برای مثبت بودن ژن RB1 داشتند. این شانس برای N-ras ، c-Fos و Cyclin-D1 به ترتیب ۳/۶، ۲/۷۵ و ۲/۶۶ برابر بود. در موارد مثبت Cyclin-D1، شـانس مثبـت بـودن N-Ras، ۴/۷۵ برابـر بیشتر از شانس منفی بودن این ژن محاسبه شد.

بحث

مطالعات بسـیاری در مـورد تغییـرات بیـان انکوژنهـا و ژنهـای سرکوب کننده توموری که در ایجاد هپاتوسلولار کارسینومای ناشی از HBV/HCV یا کارسینوژنهای شیمیایی و عوامل دیگر نقش دارند، انجام شده است. در بعضی مناطق، موتاسـیون ژن سـرکوب کننـده P53 در بیمـاران مبـتلا بـه هپاتوسـلولار کارسـینوما، بـه میـزان ۵۰-۳۰٪ مشـاهده شـده اسـت (۱۸). مطالعـه An و همکـارانش نشـان داد مـوارد هپاتوسـلولار کارسینوم همراه با بیان بیش از حد ژن P53 بوده است (۱۹). بیان بیش از حد ژن P53 در ژاپنی هـا، ۳۷/۵٪ و در سـاکنین اندونزی به میزان ۶۲/۵٪ گزارش شده است (۲۰). البته میزان موتاسیون ژن P53 در هپاتوسلولار کارسـینوما در هندوسـتان بسیار پایین است و ممکن است که نقـش مهمـی را در ایجـاد سرطان در این منطقه نداشته باشد (۲۱).

در مطالعه Zhou و همکاران ذکر شده است که موتاسـیون ژن P53 ممکن است در ایجاد هپاتوسلولار کارسینومای در رابطـه با ویروس هپاتیت B نقش داشته باشد؛ امـا بـا ایـن وجـود بـه دلیل پایین بودن میزان موتاسـیون ژن P53 در ایـن مطالعـه، نگارندگان به این نتیجه رسـیدند کـه عوامـل دیگـری نیـز در هپاتوژنز نقش دارنـد (۲۲). اخیـرا Ming و همکـاران بـه ایـن نتیجه رسیده اند که موتاسـیون ژن P53 در منـاطقی از چـین که هپاتوسلولار کارسینوما شیوع بالایی دارد، بیشتر از مناطقی است که شیوع این بیماری کم می باشد. بیش از ۹۵٪ نمونـه های سرطانی بررسی شده در این طرح، تجمع داخل هسته ای قابل توجهی از پروتئین P53 را نشـان دادنـد، کـه بـه وسـیله ایمونوهیستولوژی شناسـایی شـدند (۲۳). بـا ایـن وجـود، در مطالعـه Biersing و همکـاران در سـوئد (۲۴) و Vesey و همکـاران در اسـترالیا (۲۵)، موتاسـیون نقطه ای ژن P53 در هپاتوسلولار کارسـینوما یـا اصـلا وجـود نداشت و یا در حد بسیار کمی بود. بنابراین، بیان بیش از حـد پروتئین P53 در نمونه های هپاتوسلولار کارسینوما می توانـد بعنوان یک علامت بیوپاتولوژیک در بافتهای تومورال به حساب آید. در مطالعه ما در۲۴٪ نمونه ها تجمع هسـته ای پـروتئین P53 و در ۸٪ آنها تجمع پـروتئین N-ras دیـده شـد. Cerutti (۲۶) و Tong (۲۷) گـزارش داده انـد کـه تغییـرات بیـان ژن سرکوب کننده تومور P53 و ژنی از خانواده ras، ممکـن اسـت مهمترین تغییر در هپاتوسلولار کارسینوما باشد. بیان بـیش از حـد انکـوژن N-ras در درصـد بـالایی از بیمـاران مبـتلا بـه هپاتوسلولار کارسینوما دیـده شـده اسـت (۱۸). Ushijima و همکاران(۲۸)، Imai و همکـاران(۲۹) و Tamano و همکـاران (۳۰) به این نتیجه دست یافتنـد کـه موتاسـیون انکـوژن ras ممکن است یک واقعه زودرس در هپاتوسلولار کارسینوما باشد و بیان این ژن در بافتهای تومورال و غیر تومورال به میزانهـای متفـاوتی وجـود دارد. Lin YZ و همکـاران بـه ایـن نتیجـه رسیدند که بیان N-ras در تومور کبد بـا میـزان درجـه تمـایز سلولها ارتباط دارد (۳۱). البته Chao و همکاران ذکـر کردنـد که فعال شدن ژن ras در ایجـاد هپاتوسـلولار کارسـینوماهای ناشـی از آفلاتوکسـین نقـش مهمـی را ایفـا نمـی کنـد (۱۲). مطالعه ای نیز در آفریقای جنوبی بر روی بیماران سیاهپوسـت که در معرض تماس با آفلاتوکسین غذایی بودند، انجـام شـده است و همین نتیجه را تأیید می کند (۳۲).

Lin GY و همکاران غیر فعال شدن ژن سـرکوب کننـده P53 وRB1 را به صور مختلف مشاهده کردند و آنرا به عنوان پاتوژنز بیماریهـای بـدخیم در انسـان ذکـر نمودنـد (۱۰). همچنـین Kodoh و همکاران، غیرفعال شدن ژنهای P53 و RB1 و چند ژن دیگر را در ایجاد هپاتوسلولار کارسینوما مؤثر دانسـته انـد (۳۳). عدم بیان ژن سرکوب کننده RB1 در ۲۵-۲۰٪ بیماران مبتلا بـه هپاتوسـلولار کارسـینوما و در۸۶-۸۰٪ هپاتوسـلولار کارسینوماهایی که موتاسیون ژن P53 داشته اند، گزارش شده است. بطور کلی عدم بیـان ژن RB1 در بیمـاری هپاتوسـلولار کارسینوما در مطالعات متعددی یافت شده است (۳۵،۳۴). در مطالعه ما، در ۸۸٪ موارد عدم بیان پروتئین RB1 وجود داشت که با نتایج مطالعات قبلی همخوانی دارد.

در مطالعه Choi و همکاران، بیان بیش از حـد Cyclin-D1 بـا موتاسیون ژن P53 ارتباط مستقیمی داشت. بعلاوه، بیان بیش از حد Cyclin-D1 و موتاسیون ژن P53 در ارتباط با پیشـرفت هپاتوسلولار کارسینومای ناشی از ویروس هپاتیـت B گـزارش شده است (۳۶). در مطالعه حاضر ارتباطی بـین بیـان بـیش از حـد Cyclin-D1 و RB1 بدسـت آمـد، بطـوری کـه در تمـام مواردیکه بیان بیش از حد Cyclin-D1 وجود داشت (۵ مورد) عدم بیان ژن RB1 دیده شد.

Abuthnot و همکاران برای اولین بار در سال ۱۹۹۱، افزایش بیان ژن های c-fos و c-myc و در نتیجه پروتئینهای مربوط به آنها را در سلولهای تعدادی از سرطانهای کبد گزارش نموده اند (۳۷). همچنین Wang و همکاران، مشاهده نمودند که بیان ژنهای c-fos و N-ras در سلولهای سرطانی کبد بیشتر از سلولهای سالم می باشد (۳). در مطالعه ما میزان بیان ژن c-fos در نمونه ها، ۱۲ مورد (۴۸٪) بود.

بطور کلی با انجام این مطالعه، به این نتیجه دست یافتیم که تغییرات بیان ژنهای P53، RB1 و c-fos در ایجاد هپاتوسلولار کارسینوما نقش عمده ای دارند و ارتباط معنی داری بین موتاسیون های همزمان این ژنها نیز وجود دارد. توصیه می شود که در آینده مطالعات بیشتری جهت بررسی نوع موتاسیون ها و علل ایجاد این موتاسیون ها انجام شود.

تشکر و قدردانی

نویسندگان این مقاله از آقای دکتر حمید اسدزاده و خانم فاطمه سلگی به خاطر کمک در جمع آوری نمونه ها، کمال تشکر را دارند. همچنین از خانم سودابه قاسمی و خانم شبنم امامی که مسؤولیت آماده سازی بافتها را در این طرح بر عهده داشتند، سپاسگزارند. در پایان نیز از خانم فرنوش افشار امین به خطر جمع آوری داده ها، قدردانی می نمایند.

REFERENCES

1. Roncalli M, Bianchi P, Grimaldi GC, Ricci D, Laghi L, Maggioni M, et al. Fractional allelic loss in non-end-stage cirrhosis: correlations with hepatocellular carcinoma development during follow-up. Hepatology 2000; 3: 846-50.

2. Okuda K. Epidemiology of primary liver cancer. In: Tobe T, editor. Primary liver cancer in Japan. Springer-Verlag, Tokyo, 1992; p: 3.

3. Wang Z, Xiang Q, Li D, Li S. Correlation between gene expression and chromatin conformation of c-fos and N-ras in human liver and hepatoma. Chin Med Sci J 1991; 6(1): 6-8.

4. Trevisani F, D'Intino PE, Grazi GL, Caraceni P, Gasbarrini A, Colantoni A. Clinical and pathologic features of hepatocellular carcinoma in young and older Italian patients. Am Cancer Soc 1996; 77: 2223-32.

5. Simonetti RG, Camma C, Fiorello F, Politi F, D'Amico G, Pagliaro L. Hepatocellular carcinoma; A world wild problem and the major risk factors. Dig Dis Sci 1991; 23: 443-7.

6. Akriviadis EA, Llovet JM, Efremidis SC, Shouval D, Canelo R, et al. Hepatocellular carcinoma. Br J Surg 1998; 85: 1319-31.

7. Ashida K, Kishimoto Y, Nakomoto K, Wada K, Shiota G, Hirooka Y, Kamisaki Y, et al. Loss of heterozygosity of the retinoblastoma gene in liver cirrhosis accompanying hepatocellular carcinoma. J Cancer Res Clin Oncol 1997; 123: 489-95.

8. Katiyar S, Dash BC, Thakur V, Guptan RC, Sarin SK, Das BC. P53 tumor suppressor gene mutations in hepatocellular carcinoma patients in India. Cancer 2000; 88(7): 1565-73.

9. Lane DP. P53 Guardian of the genome. Nature 1992; 358: 15-6.

10. Guo Yue Lin, Zhao Lun Chen, Cai Mo Lu, Ying Li, Xiao Jia Ping, Rong Huang. Immunohistochemical study on p53, H-rasp21, c-eRBB-2 protein and PCNA expression in HCC tissues of Han and minority ethnic patients. World J Gastroentrol 2000; 6(2): 234-38.

11. Lun-Xio Qin, Zhao-You Tang, Zeng-Chen Ma, Zhi-Quan Wu, Xin-Da Zhou, Qing-Hai Ye, et al. P53 immunohistochemical scoring: an independent prognostic marker for patients after hepatocellular carcinoma resection. World J Gastroenterol 2002; 8(3): 459-63.

12. Chao HR, Tsai TF, Lin CS, Su TS. Evidence that mutational activation of the ras genes may not be involved in aflatoxin B1-induced human hepatocarcinogenesis, based on sequence analysis of the ras and p53 genes. Mol Carcinog 1999; 26(2): 69-73.

13. Murakami Y, Hayashi K, Hirohashi S, Sekiya T. Aberrations of the tumor suppressor p53 and retinoblastoma genes in human hepatocellular carcinoma. Cancer Res 1991; 51: 5520-5.

14. Teramoto T, Satonaka K, Kitazawa S, Fujimori T, Hayashi K, Maeda S. P53 gene abnormalities are closely related to hepatoviral infections and occur at a late stage of hepatocarcinogensis. Cancer Res 1994; 54: 231-5.

15. Dominguez-Malagon H, Gaytan-Graham S. Hepatocellular carcinoma: an update. Ultrastruct Pathol 2001; 25(6): 497-516.

Downloaded from pejouhesh.sbmu.ac.ir at 2:50 +0330 on Sunday October 20th 2019

Downloaded from pejouhesh.sbmu.ac.ir at 2:50 +0330 on Sunday October 20th 2019

16. Joo M, Kang YK, Kim MR, Lee HK, Jang JJ. Cyclin D1 overexpression in hepatocellular carcinoma. Liver 2001; 21(2): 89-95.

17. Yuen MF, Wu PC, Lai VC, Lau JY, Lai CL. Expression of c-Myc, c-Fos, and c-jun in hepatocellular carcinoma. Cancer 2001; 91(1): 106-12.

18. Tabor E. Tumor suppressor genes, growth factor genes, and oncogenes in hepatitis B virus-associated hepatocellular carcinoma. J Med Virol 1994; 42(4): 357-65.

19. An FQ, Matsuda M, Fujii H, Tang RF, Amemiya H, Dai YM, Matsumoto Y. Tumor heterogeneity in small hepatocellular carcinoma: analysis of tumor cell proliferation, expression and mutation of p53 and beta-catenin. Int J Cancer 2001; 93(4): 468-74.

20. Marwoto W, Miskad UA, Siregar NC, Gani RA, Boedihusodo U, Nurdjanah S, et al. Immunohistochemical study of p53, PCNA and AFP in hepatocellular carcinoma, a comparison between Indonesian and Japanese cases. Kobe J Med Sci 2000; 46(5): 217-29.

21. Buendia MA. Genetic of hepatocellular carcinoma. Semin Cancer Biol 2000; 10(3): 185-200.

22. Zhou F, Wang J, Lei B, Zhao L, Tang H, Wang X, et al. Detection of p53 gene mutation in hepatocellular carcinoma. Hua Xi Yi Ke Da Xue Xue Bao 1997; 28(1): 50- 4.

23. Ming LH, Yuan BJ, Thorgerisson SS, Zu YR, Wu ZY, Sun ZT. Characteristics of high frequency 249 codon mutation of p53 gene in hepatocellular carcinoma in prevalent area of China. Zhonghua Zhongliu Zazhi 1991; 21: 122-4.

24. Biersing L, Andersson C, Lithner F. Hepatocellular carcinoma in patients from northern Sweden with acute intermittent porphyria: morphology and mutations. Cancer Epidemiol Biomarkers Prev 1996; 5: 393-7.

25. Vesey DA, Hayward NK, Cooksley WG. P53 gene in hepatocellular carcinoma from Australia. Cancer Detect Prev 1994; 18: 123-30.

26. Cerutti P, Hussanin P, Pourzand C, Aguilar F. Mutagenesis of the H-ras protooncogene and the p53 tumor suppressor gene. Cancer Res 1994; 54(7Suppl): 1934-8.

27. Tong ZY. Advances in primary hepatocarcinoma research. Zhongguo Zhongliu Linchuang 1998; 25: 137-42.

28. Ushijima T, Makino H, Kakiuchi H, Inoue R, Sugimura T, Nagao M. Genetic alterations in HCA-induced tumors. Princess Takamatsu Symp 1995; 23: 281-91.

29. Imai Y, Oda H, Arai M, Shimizu S, Nakatsuru Y, Inoue T, et al. Mutational analysis of the p53 and k-ras genes and allelotype study of the RB-1 gene for investigating the pathogenesis of combined hepatocellular-cholangiocellular carcinoma. Jpn J Cancer Res 1996; 87: 1056-62.

30. Tamano S, Ward JM, Diwan BA, Keefer LK, Weghorst CM, Calvert RJ, et al. Histogenesis and the role of p53 and ras mutations in hepatocarcinogenesis by glyceryl trinitrate (nitroglycerine) in male F344 rats. Carcinogenesis 1996; 17: 2477-86.

31. Lin YZ, Din L, Chen JY. The expression of c-myc, N-ras mRNA and its relations to the differentiation of preneoplastic altered hepatocytes. Zhonghua Zhongliu Zazhi 1993; 15: 97-100.

32. Leon M, Kew MC. Analysis of ras gene mutations in hepatocellular carcinoma in southern African blacks. Anticancer Res 1995; 15(3): 859-61.

33. Kondoh N, Wakatsuki T, Hada A, Shuda M, Tanaka k, Aria M, et al. Genetic and epigenetic events in human hepatocarcinogenesis. Int J Oncol 2001; 18(6): 1271-8.

34. Okamoto Y. Dibutyryl cyclic AMP-induced enhancement of RB protein degradation in human hepatoma cells. Anticancer Res 1999; 19(6B): 5181-5.

35. Buendia MA. Genetic of hepatocellular carcinoma. Semin Cancer Biol 2000; 10(3): 185-200.

36. Choi YL, Park SH, Jang JJ, Park CK. Expression of the G1-S modulators in hepatitis B virus-related hepatocellular carcinoma and dysplastic nodule: association of cyclin D1 and p53 proteins with the progression of hepatocellular carcinoma. J Korean Med Sci 2001; 16(4): 424-32.

37. Abuthnot P, Kew M, Fitschen W. C-fos, c-myc oncoprotein expression in human hepatocellular carcinomas. Anti Cancer Res 1991; 11: 921-4.