مجله دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی تهران، اردیبهشت ۱۳۹۸، دوره ۷۷، شماره ۲، صفحه‌های ۶۹ تا ۷۵

مقاله اصیل

بررسی سطح بیان ژن‌های GPRC6A، E.cadherin و ZEB1 در سرطان پروستات در مقایسه با بافت خوش‌خیم آن

رقیه قاسمی[۱]
آزاده شجاعی[۱*]
بهناز کریمی[۲]

۱- گروه ژنتیک پزشکی و بیولوژی مولکولی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی ایران، تهران، ایران.
۲- آزمایشگاه ژنتیک پزشکی، بیمارستان شهید اکبرآبادی، دانشگاه علوم پزشکی ایران، تهران، ایران.

*نویسنده مسئول: تهران، بزرگراه شهید همت، جنب بیمارستان میلاد، دانشگاه علوم پزشکی ایران، دانشکده پزشکی، گروه ژنتیک پزشکی و بیولوژیکی مولکولی.
تلفن: ۸۶۷۰۳۲۵۲ -۰۲۱
E-mail: a_shojaei2007@yahoo.com

چکیده

دریافت: ۱۳۹۷/۱۱/۳۰ ویرایش: ۱۳۹۷/۱۲/۰۷ پذیرش: ۱۳۹۸/۰۲/۲۳ آنلاین: ۱۳۹۸/۰۲/۳۱

زمینه و هدف: سرطان پروستات در حال حاضر سومین بیماری بدخیم در ایران و پنجمین سرطان رایج در سراسر جهان است. اگرچه شیوع این سرطان در ایران بسیار کمتر از کشورهای غربی است، اما میزان آن در طول سال‌های اخیر افزایش یافته است. این مطالعه با هدف تعیین بیان ژن‌های GPRC6A، E.cadherin و ZEB1 در سرطان پروستات در مقایسه با بافت خوش‌خیم آن انجام شد.

روش بررسی: در این مطالعه مورد-شاهدی در طی بهمن ماه ۱۳۹۵ تا شهریور ۱۳۹۷ در دانشکده پزشکی دانشگاه علوم پزشکی ایران، ۳۰ نمونه شامل ۱۵ نمونه از بافت بدخیم سرطان پروستات و ۱۵ نمونه از بافت خوش‌خیم آن از بیماران تهیه گردید. از بافت‌های مورد نظر RNA استخراج شد. سپس cDNA آن‌ها ساخته شد. در ادامه با استفاده از تکنیک Real-time polymerase chain reaction (PCR) بیان ژن‌های GPRC6A، E.cadherin، ZEB1 اندازه‌گیری شده و برای تحلیل میزان بیان ژن‌ها از نرم‌افزار Relative expression software tool (REST), Version 2009 (http://rest.gene-quantification.info/) استفاده شد.

یافته‌ها: در این مطالعه بیان ژن‌های GPRC6A و ZEB1 در سرطان پروستات در مقایسه با بافت خوش‌خیم آن افزایش و بیان ژن E.cadherin کاهش داشت. در این مطالعه ارتباط معناداری بین بیان ژن‌ها در نمونه‌های خوش‌خیم و بدخیم با فاکتورهای تشخیصی مرسوم در این نوع بیماری مثل سن، مقدار Prostate-specific antigen (PSA)، مرحله پاتولوژیکی و رتبه گلیسون یافت نشد.

نتیجه‌گیری: ژن‌های بررسی شده دارای توان بالقوه برای غربالگری سرطان پروستات می‌باشند و با بررسی‌های بیشتر می‌توانند به‌عنوان مارکر تشخیصی سرطان پروستات استفاده شوند.

کلمات کلیدی: cadherins، GPRC6A، سرطان پروستات، ZEB1.

مقدمه

شواهد قابل‌توجهی وجود دارد که فاکتورهای ژنتیکی در ایجاد سرطان پروستات و در تبدیل فرم خوش‌خیم Benign prostate hyperplasia (BPH) به فرم بدخیم Prostate cancer (Pca) اهمیت زیادی دارند.[۱]

مطالعات Genome Wide Association Study (GWAS) واریانت‌های مختلفی را در لکوس‌های متعدد که تاثیر متوسطی روی ریسک خطر ابتلا به سرطان پروستات دارند شناسایی کرده است. کمابیش ۳۰ لکوس مستقل شناسایی شده‌اند. یکی از این لکوس‌ها G protein-coupled receptor, family C, group 6 member A (GPRC6A) می‌باشد.[۲] GPRC6A برای اولین بار در سال ۲۰۰۴

شناسایی و ژن مربوطه‌اش کلون شد. این پروتیین در بافت‌های مختلف انسانی ازجمله مغز، بافت‌های محیطی، کلیه، پانکراس، عضله اسکلتی و لکوسیت‌ها به میزان زیاد بیان می‌شود اما در پروستات نرمال بیان نمی‌شود.[۳] چند مطالعه به‌تازگی به نقش GPRC6A در پیشرفت سرطان پروستات اشاره دارد، اما مکانیسم عمل مولکولی آن مشخص نمی‌باشد.[۴و۵] مطالعات صورت پذیرفته تنها روی رده سلولی سرطان پروستات بوده و یک مطالعه هم در حیوان آزمایشگاهی موش انجام شده است و تاکنون بررسی بر روی نمونه‌های بالینی سرطان پروستات در انسان صورت نپذیرفته است. از این‌رو در مطالعه حاضر برای اولین بار میزان بیان GPRC6A در بافت‌های انسانی سرطان پروستات و فرم خوش‌خیم بیماری بررسی شد.

افزون‌برآن برای بررسی بیشتر مسیر مولکولی بیماری‌زایی و مشخص شدن ریسک فاکتورهای جدید، بیان ژن‌های مرتبط با EMT از جمله E.cadherin و ZEB1 را نیز در نمونه‌های خوش‌خیم و بدخیم مورد ارزیابی قرار دادیم. فرآیند EMT یک فرآیند بیولوژیکی می‌باشد که از طریق آن سلول‌های اپی‌تلیال قطبیت و توانایی چسبندگی سلول به سلول خود را از دست می‌دهند و از طرفی خاصیت تهاجم و مقاومت در برابر آپوپتوز را در خود افزایش می‌دهند تا به سلول‌های مزانشیمی تبدیل شوند.[۶] در مجموع یافته‌ها نشان می‌دهند که فعالیت نابه‌جای EMT در تهاجم و متاستاز تومور دخیل است.

فرآیند EMT با یک فاکتور رونویسی کلیدی میانجگری می‌شود که بیان ژن‌های اپی‌تلیالی مانند E.cadherin را سرکوب کرده و ژن‌های مزانشیمی مانند Vimentin و N-cadherin را القا می‌کند. در میان فاکتورهای دخیل در فرآیند EMT، پروتیین ZEB1 یک عامل مرکزی است که نه تنها از عوامل ریزمحیطی تاثیر می‌پذیرد بلکه توسط سایر فاکتورهای دخیل در EMT مانند ژن SNAIL القا می‌شود. در شرایط In vitro نشان داده شده است که ZEB1 قادر است که EMT را در سلول‌های سرطان پروستات القا کند، E.cadherin را سرکوب کند، مارکرهای مزانشیمی را افزایش دهد و مهاجرت و تهاجم سلول‌های سرطانی را پیشبری کند.[۷]

مطالعه حاضر با هدف بررسی سطح بیان ژن‌های GPRC6A، E.cadherin و ZEB1 در سرطان پروستات در مقایسه با بافت خوش‌خیم آن انجام شد.

روش بررسی

در این مطالعه مورد شاهدی ۳۰ نمونه شامل ۱۵ نمونه از بافت بدخیم سرطان پروستات و ۱۵ نمونه از بافت خوش‌خیم آن گرفته شد. نمونه‌ها با کسب رضایت از بیماران بیمارستان لبافی‌نژاد شهر تهران در مدت شش ماه از بهمن ماه ۱۳۹۵ تا مرداد ۱۳۹۷ جمع‌آوری و در همان لحظه به تانک ازت منتقل شد و پس از انتقال به آزمایشگاه بخش تحقیقات ژنتیک و سلولی مولکولی دانشکده پزشکی دانشگاه علوم پزشکی ایران، دسته‌بندی و در فریزر $^{\circ}C$ ۸۰- نگهداری شد. در ادامه از شهریور ۱۳۹۶ تا شهریور ۱۳۹۷ RNA تام با استفاده از کیت RNX-Plus™ kit (Sina Clon, Tehran, Iran) براساس پروتکل شرکت مربوطه از بافت استخراج شد و خلوص و غلظت RNA با استفاده از دستگاه NanoDrop ND-2000 Spectrophotometer (NanoDrop Technologies, Wilmington, DE, USA) اندازه‌گیری شد و اینتگریتی با الکتروفورز در ژل آگارز ۱٪ بررسی شد.

RNA ها در دمای $^{\circ}C$ ۸۰- تا مرحله سنتز cDNA نگهداری شدند. سنتز cDNA با کیت Easy™cDNA synthesis kit (Parstous Biotech, Mashhad, Iran)، به روش رونویسی معکوس و براساس پروتکل شرکت و در دماهای ($^{\circ}C$ ۲۵ به مدت پنج دقیقه. $^{\circ}C$ ۴۷ به مدت ۶۰ دقیقه. $^{\circ}C$ ۷۰ به مدت ۱۰ دقیقه) انجام شد.

جهت تایید ساخت cDNA، یک نوبت PCR معمولی با پرایمر GAPDH گذاشته شد و باند اختصاصی مربوط به صحت cDNA بر روی ژل آگارز مشاهده گردید (شکل ۱). نمونه‌ها تا مرحله انجام واکنش Real-time PCR در دمای $^{\circ}C$ ۲۰- نگهداری شدند. جهت انجام Real-time PCR و بررسی بیان ژن‌های GPRC6A، E.cadherin و ZEB1 از پرایمرهای ویژه طراحی شده برای هر ژن (جدول ۱)، کیت تاکارا (Takara, japan) و دستگاه Rotor-Gene Q real-time PCR cycler (Qiagen, Hilden, Germany) استفاده شد. ژن GAPDH به‌عنوان کنترل داخلی در نظر گرفته شد.

واکنش‌ها در حجم ۱۵ µl برای ژن GPRC6A (سایبرگرین ۷/۵ µl، پرایمر ۲، آب مقطر ۳/۵، cDNA ۲)، در حجم ۱۵ برای ژن ZEB1 (سایبرگرین ۷,۵، پرایمر ۱، آب مقطر ۳,۵، cDNA ۳) و در حجم ۲۰ برای ژن E.cadherin (سایبرگرین ۱۰، پرایمر ۲، آب مقطر ۶، cDNA ۲) انجام شد. جهت تعیین Efficiency واکنش پس از

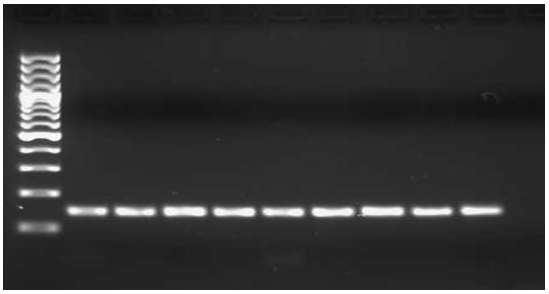
انجام واکنش Real-time polymerase chain reaction (PCR)، نمونه‌ها در LinRegPCR software (Ruijter et al. 2009) بررسی شده و نمونه‌هایی که کارایی لازم را داشتند در آنالیز آماری توسط Relative expression software tool (REST) (http://rest.gene-quantification.info/) بررسی شدند. بررسی داده‌ها با نرم‌افزار REST: پس از انجام Real-time PCR و تعیین کارایی پرایمرها در LinReg، داده‌ها در نرم‌افزار REST مورد آنالیز قرار گرفت. اساس آنالیز آماری توسط نرم‌افزار REST روش Pfaffl می‌باشد.

یافته‌ها

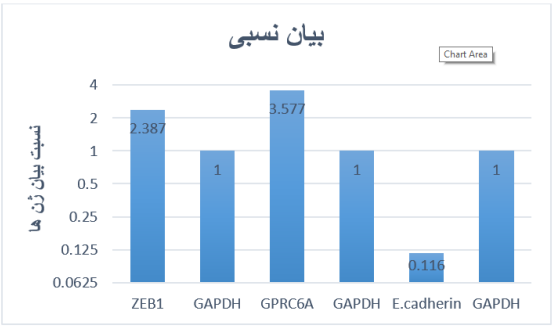
با توجه به مقدار P=۰/۰٤، ژن GPRC6A در بافت بدخیم در مقایسه با بافت خوش‌خیم به میزان ۳/۵۷۷ برابر. ژن ZEB1 با P=۰/۰۳، به میزان ۲/۳۸ برابر افزایش بیان داشته است و ژن E.cadherin با P=۰/۰۲، در بافت بدخیم در مقایسه با بافت خوش‌خیم به میزان ۰/۱۱ برابر کاهش بیان داشته است (نمودار ۱).

بحث

در سال ۲۰۱۰ طی مطالعات GWAS، GPRC6A به‌عنوان یکی از ۵ لکوس ژنتیک مرتبط با سرطان پروستات در جمعیت‌های ژاپنی معرفی شد.[۸] Pi و همکاران بیان و عملکرد GPRC6A را در پیشرفت سرطان پروستات در Invivo و Invitro با استفاده از روش‌های



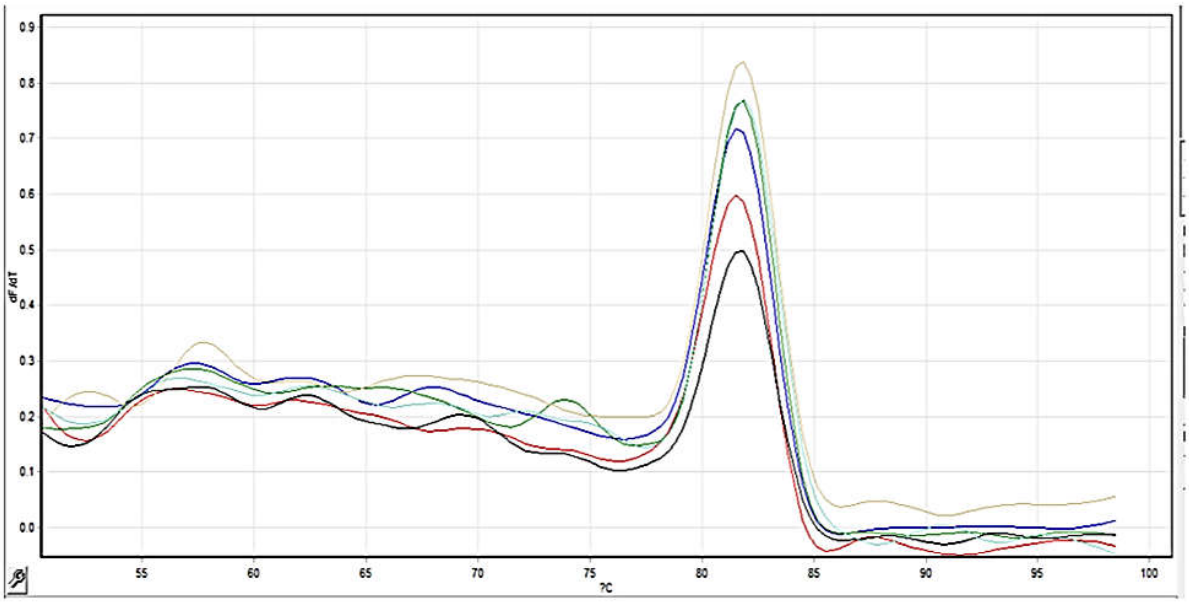
شکل ۱: ژل الکتروفورز از محصول PCR حاصل از پرایمر GAPDH روی نمونه‌های cDNA



نمودار ۱: تغییرات بیان ژن‌ها

جدول ۱: توالی پرایمرها

	پرایمر	سکانس
۱	ZEB1-F	5′ CTTCTCACACTCTGGGTCTTATTC 3′
	ZEB1-R	5′CGTTCTTCCGCTTCTCTCTTAC 3′
۲	GAPDH- F	5′AGTCCCTGCCACACTCAG3′
	GAPDH-R	5′TACTTTATTGATGGTACATGACAAGG3′
۳	GPRC6A-F	5′ATGCCACAGGTGGGTTATGA3′
	GPRC6A-R	5′CACTGGGCACAGTCCGTAAA3′
٤	E.cadherin-F	5′ CAGGAGTCATCAGTGTGGT3′
	E.cadherin-R	5′GGAGGATTATCGTTGGTGTCAG3′



نمودار ۲: Melting curve مربوط به تکثیر اختصاصی پرایمر GPRC6A

مولکولی و استفاده از موش‌های آزمایشگاهی بررسی کردند و دریافتند که این ژن در پروستات نرمال بیان می‌شود اما در سل‌لاین سلول‌های سرطانی افزایش بیان دارد. آن‌ها با Knock down ژن GPRC6A توسط siRNA توانستند از تکثیر و پیشرفت سلول‌های سرطانی جلوگیری کنند و حذف این ژن در مدل‌های موشی سرطان پروستات به‌طور چشمگیری پیشرفت سرطان پروستات را کاهش و علایم بهبودی را افزایش می‌دهد.

بر پایه‌ی این یافته‌ها پیشنهاد کردند که GPRC6A پاسخ‌های پروستات را به استئوکلسین، مواد غذایی و اثرات غیرژنومیک آندروژن تعدیل و تنظیم می‌کند و هدف قرار دادن این رسپتور می‌تواند یک استراتژی برای درمان سرطان پروستات باشد.[۴]

Liu و همکاران با مطالعه Single nucleotide polymorphism (SNP) مرتبط با GPRC6A نشان دادند که SNP (rs1606365) با تهاجم Pca مرتبط است آن‌ها همچنین برای مشخص شدن نقش GPRC6A در متاستاز سرطان پروستات، بیان پروتیین‌هایی که در متاستاز نقش دارند از جمله Matrix-metalloproteinases (MMPs) را در رده سلولی سرطان پروستات بررسی کردند.[۱۴] افزون‌برآن بیان ژن‌های مرتبط با Epithelial-mesenchymal transition (EMT) مانند E-cadherin و ZEB1 را در سطح Cell line نیز اندازه‌گیری کردند و با توجه به کاهش بیان E-cadherin و افزایش بیان ZEB1 نشان دادند که GPRC6A با تهاجم سرطان پروستات مرتبط بوده و با جلوگیری از بیان آن می‌توان تهاجم و مهاجرت سلول‌های سرطانی پروستات را کاهش داد.

آن‌ها در مطالعه‌ی خود نشان دادند که با Knock down ژن GPRC6A توسط siRNA یک تغییر فنوتیپی در سلول‌های سرطانی پروستات اتفاق افتاده و از قدرت تهاجم آن‌ها کاسته می‌شود.[۵] در مطالعه حاضر برای ارزیابی ارتباط و نقش GPRC6A با Pca برای اولین بار در نمونه‌ی انسانی بیان این ژن را در سطح mRNA در ۱۵ نمونه خوش‌خیم و ۱۵ نمونه بدخیم سرطان پروستات با تکنیک Real-time PCR سنجیده شد.

براساس نتایج این طرح، GPRC6A در نمونه‌های خوش‌خیم سرطان پروستات بیان می‌شود اما در نمونه‌های سرطانی افزایش بیان

سه برابری مشاهده شد. این آزمایشات که برای اولین بار در بافت تازه انسانی انجام شده است، نتایج دیگر پژوهشگران را که فقط در سطح Cell line و در موش کار کرده بودند تایید می‌کند. در این مطالعه ارتباط معناداری بین بیان ژن GPRC6A در بیماران مبتلا به سرطان پروستات با فاکتورهای تشخیصی مرسوم در این نوع بیماری برای مثل سن، مقدار Prostate-specific antigen (PSA)، مرحله پاتولوژیکی و رتبه گلیسون یافت نشد اما مطابق با پژوهش‌های گذشته و این تحقیق باوجود عدم ارتباط بیان ژن GPRC6A با فاکتورهای تشخیصی مرسوم، می‌توان از این ژن به‌عنوان بیومارکر برای تشخیص سرطان پروستات استفاده کرد.

Figiel و همکارانش بیان EMT مارکرهای مختلفی از جمله ZEB1 را در بافت نرمال سرطان پروستات، سرطان موضعی پروستات، سرطان مقاوم به اختگی (CRPC) و حالت متاستاتیک آن با تکنیک ایمونوهیستوشیمی بررسی کردند. آن‌ها دریافتند که ZEB1 در بافت نرمال بیان ندارد و بیان در حالت CRPC و متاستاز نسبت به سرطان موضعی نیز بیشتر است.[۹]

Katz و همکاران نشان دادند که در حالت سرطان پروستات موضعی، بیان ZEB1 در سطح mRNA تفاوت معناداری با پیشرفت بیوشیمیایی سرطان به لحاظ میزان PSA، رتبه گلیسون و مرحله TNM ندارد.[۱۰]

اما در سطح پروتیین افزایش بیان ZEB1 در سرطان پروستات نسبت به پروستات نرمال گزارش شده است اما ارتباط معناداری بین میزان بیان و مراحل سرطان یافت نشده است.[۱۱و۱۲]

در مطالعه حاضر مطابق با نتایج تحقیقات گذشته، در نمونه‌های سرطانی پروستات در مقایسه با نمونه‌های خوش‌خیم افزایش بیان ZEB1 را مشاهده شد. اهمیت این مطالعه این است که همانند ژن GPRC6A، ژن ZEB1 را نیز برای اولین بار در نمونه‌های تازه انسانی مورد بررسی و آنالیز قرار گرفت.

مطابق نتایج گزارش شده توسط Behnsawy و همکارانش، در مطالعه حاضر نیز ارتباط معناداری بین بیان ژن ZEB1 در بیماران مبتلا به سرطان پروستات با فاکتورهای تشخیصی مرسوم در این نوع بیماری مانند سن، مقدار PSA، مرحله پاتولوژیکی و رتبه گلیسون یافت نشد.[۱۳] مطابق با تحقیقات گذشته و این تحقیق باوجود عدم ارتبـاط بیان ژن ZEB1 با فاکتورهای تشخیصی مرسوم، می‌توان از این ژن به‌عنوان بیومارکری برای تشخیص سرطان پروستات استفاده نمود.

Fan و همکاران نشان دادند که بیان E.cadherin در رده سلولی سلول‌های متاستاتیک پروستات کمتر از سلول‌های سرطانی اولیه پروستات است و سلول‌های سرطانی پروستات با بیان کمتر E.cadherin قدرت تهاجم بیشتر دارند در نتیجه کاهش بیان E.cadherin قادر است فنوتیپ بدخیمی را در سرطان پروستات القا کند.[۱۴] بنابراین مطالعات نشان داده است که از بررسی تغییرات E.cadherin و بیان آن می‌توان به‌عنوان یک پارامتر پیش‌بینی کننده و تشخیصی در بیماران مبتلا به سرطان پروستات استفاده کرد.[۱۵]

فقدان E.cadherin منجر به جدایی سلول‌های تومور شده و توانایی آن‌ها را برای مهاجرت، تهاجم و متاستاز افزایش می‌دهد که این ویژگی‌ها با پیش‌آگهی ضعیف در بیماران مبتلا به سرطان همراه است.[۱۶،۱۹-۱۷] در مطالعه حاضر مطابق با مطالعات گذشته E.cadherin کاهش بیان داشت، در نتیجه در تومورها بیان ZEB1 با فقدان E.cadherin در ارتباط بوده و با بیماری‌های پیشرفته یا متاستاز همراه است که مشخص می‌کند ZEB1 فرآیند EMT و پیشرفت تومور را در سرطان‌های بالینی القا می‌کند. بنابراین بررسی تغییرات بیان ZEB1 و E.cadherin می‌تواند به‌عنوان یک پارامتر پیش‌بینی کننده و تشخیصی در بیماران مبتلا به سرطان پروستات استفاده شود. افزایش بیان ZEB1 و کاهش بیان E.cadherin نیز باعث عدم اتصال سلول‌ها و گسترش متاستاز می‌شود. در نتیجه در تومورها بیان ZEB1 با فقدان E.cadherin در ارتباط بوده و با بیماری‌های پیشرفته یا متاستاز همراه است که مشخص می‌کند ZEB1 فرآیند EMT و پیشرفت تومور را در سرطان‌های بالینی القا می‌کند.

سپاسگزاری: این مطالعه برگرفته از پایان‌نامه تحت عنوان "بررسی سطح بیان ژن‌های GPRC6A، E.cadherin و ZEB1 در سرطان پروستات در مقایسه با بافت خوش‌خیم آن" در مقطع کارشناسی ارشد در سال ۱۳۹۷ و کد ۱۱ می‌باشد که با حمایت دانشکده پزشکی دانشگاه علوم‌پزشکی ایران اجرا شده است. بدین وسیله نویسندگان از همکاری پرسنل محترم آزمایشگاه ژنتیک دانشکده پزشکی دانشگاه علوم پزشکی ایران و پرسنل محترم آزمایشگاه ژنتیک بیمارستان شهید اکبرآبادی کمال تشکر و قدردانی را دارند.

References

1. Bazhan E, Baradaran B. MicroRNA-143 inhibits migration of human prostate cancer cells (PC3). *J Ardabil Univ Med Sci* 2017;17(2):142-53.
2. Thomas G, Jacobs KB, Yeager M, Kraft P, Wacholder S, Orr N, et al. Multiple loci identified in a genome-wide association study of prostate cancer. *Nat Genet* 2008;40(3):310-5.
3. Wellendorph P, Bräuner-Osborne H. Molecular cloning, expression, and sequence analysis of GPRC6A, a novel family C G-protein-coupled receptor. *Gene*. 2004;335:37-46.
4. Pi M, Quarles LD. GPRC6A regulates prostate cancer progression. *Prostate* 2012;72(4):399-409.
5. Liu M, Zhao YY, Yang F, Wang JY, Shi XH, Zhu XQ, et al. Evidence for a role of GPRC6A in prostate cancer metastasis based on case-control and in vitro analyses. *Eur Rev Med Pharmacol Sci* 2016;20(11):2235-48.
6. Jia B, Liu H, Kong Q, Li B. Overexpression of ZEB1 associated with metastasis and invasion in patients with gastric carcinoma. *Mol Cell Biochem* 2012;366(1-2):223-9.
7. Lamouille S, Xu J, Derynck R. Molecular mechanisms of epithelial-mesenchymal transition. *Nat Rev Mol Cell Biol* 2014r;15(3):178-96.
8. Takata R, Akamatsu Sh, Kubo M, Takahashi A, Hosono N, Kawaguchi T, et al. Genome-wide association study identifies five new susceptibility loci for prostate cancer in the Japanese population. *Nature Genet* 2010;14(9):751-3.
9. Figiel S, Vasseur C, Bruyere F, Rozet F, Maheo K, Fromont G. Clinical significance of epithelial-mesenchymal transition markers in prostate cancer. *Hum Pathol* 2017;61:26-32.
10. Katz B, Reis ST, Viana NI, Morais DR, Moura CM, Dip N, et al. Comprehensive study of gene and microRNA expression related to epithelial-mesenchymal transition in prostate cancer. *PLoS One* 2014;9(11):e113700.
11. Graham TR, Zhau HE, Odero-Marah VA, Osunkoya AO, Kimbro KS, Tighiouart M, et al. Insulin-like growth factor-I-dependent up-regulation of ZEB1 drives epithelial-to-mesenchymal transition in human prostate cancer cells. *Cancer Res* 2008;68(7):2479-88.
12. Gravdal K, Halvorsen OJ, Haukaas SA, Akslen LA. A switch from E-cadherin to N-cadherin expression indicates epithelial to mesenchymal transition and is of strong and independent importance for the progress of prostate cancer. *Clin Cancer Res* 2007;13(23):7003-11.
13. Behnsawy HM, Miyake H, Harada K, Fujisawa M. Expression patterns of epithelial-mesenchymal transition markers in localized prostate cancer: significance in clinicopathological outcomes following radical prostatectomy. *BJU Int* 2013;111(1):30-7.
14. Fan L, Wang H, Xia X, Rao Y, Ma X, Ma D, et al. Loss of E-cadherin promotes prostate cancer metastasis via upregulation of metastasis-associated gene 1 expression. *Oncol Lett* 2012;4(6):1225-1233.
15. Tsaur I, Thurn K, Juengel E, Gust KM, Borgmann H, Mager R, et al. sE-cadherin serves as a diagnostic and predictive parameter in prostate cancer patients. *J Exp Clin Cancer Res* 2015;34:43.
16. De Craene B, Berx G. Regulatory networks defining EMT during cancer initiation and progression. *Nat Rev Cancer* 2013;13(2):97-110.
17. Cavallaro U, Christofori G. Cell adhesion and signalling by cadherins and Ig-CAMs in cancer. *Nat Rev Cancer* 2004;4(2):118-32.
18. Derksen PW, Liu X, Saridin F, van der Gulden H, Zevenhoven J, Evers B, et al. Somatic inactivation of E-cadherin and p53 in mice leads to metastatic lobular mammary carcinoma through induction of anoikis resistance and angiogenesis. *Cancer Cell* 2006;10(5):437-49.
19. Onder TT, Gupta PB, Mani SA, Yang J, Lander ES, Weinberg RA. Loss of E-cadherin promotes metastasis via multiple downstream transcriptional pathways. *Cancer Res* 2008;68(10):3645-54.

TUMJ Tehran University Medical Journal, May 2019; Vol. 77, No. 2: 69-75 Original Article

Evaluation of gene expression level of GPRC6A, E.cadherin and ZEB1 in prostate cancer in comparison to benign tissues

Roghaye Ghasemi M.Sc.[1]
Azadeh Shojaei M.D., Ph.D.[1*]
Behnaz Karimi M.Sc.[2]

1- Department of Medical Genetics and Molecular Biology, Faculty of Medicine, Iran University of Medical Sciences, Tehran, Iran.
2- Medical Genetic Laboratory, Shahid Akbarabad Hospital, Iran University of Medical Sciences, Tehran, Iran.

[*]Corresponding author: Department of Medical Genetics and Molecular Biology, Faculty of Medicine, Iran University of Medical Sciences, Next to Milad Hospital, Shahid Hemmat Highway, Tehran, Iran.
Tel: +98- 21- 86703252
E-mail: a_shojaei2007@yahoo.com

Abstract

Received: 19 Feb. 2019 Revised: 26 Feb. 2019 Accepted: 13 May 2019 Available online: 21 May 2019

Background: Prostate cancer is currently the third malignant disease in Iran and fifth common cancer worldwide. The aim of this study was to determine the expression of GPRC6A, E.cadherin, and ZEB1 genes in prostate cancer in comparison with benign tumor. Since early detection of cancer plays an important role in treatment, this study aims to identify the role of GPRC6A, E.cadherin and ZEB1 genes in screening of prostate cancer.

Methods: In this case-control study, 30 samples including 15 samples of malignant prostate cancer and 15 samples of benign tumor were collected from the patients. RNA was extracted from the tissues, followed by cDNA preparation. In the last step, expression of GPRC6A, E.cadherin and ZEB1 genes was measured using the Real-time polymerase chain reaction (PCR) technique and the Relative expression software tool (REST), Version 2009 (http://rest.gene-quantification.info/).

Results: In this study, the expression of GPRC6A genes compared to its benign tumor increased 3-fold, ZEB1 expression in prostate cancer, compared to its benign tumor, increased 2-fold, and expression of E.cadherin gene in cancerous samples compared to benign tumor declines 10 was equal. In this study, there was no significant relationship between the expression of genes in benign and malignant samples with common diagnostic factors in this type of disease such as age, Prostate-specific antigen (PSA), pathologic stage and Gleason score.

Conclusion: According to this study and similar studies, increased expression of GPRC6A in prostate cancer cells can stimulate the progression of cancer cells by regulating cell proliferation and invasive response to various ligands. Increasing the expression of ZEB1 and decreasing the expression of E.cadherin is also due to the lack of binding of cells and spread of metastasis. As a result, tumors express ZEB1 with absence of E.cadherin is associated with advanced disease or metastases, which indicates that ZEB1 induces EMT and tumor progression in clinical cancers. Therefore examined genes have potential for screening prostate cancer and they can be used as a diagnostic marker for prostate cancer with further investigation.

Keywords: cadherins, GPRC6A, prostatic neoplasms, ZEB1.