بررسی تغییرات تعداد نسخه ژن‌های *HER2*، *MDM2*، *MYC*، *MET* و *TP53* در بیماران مبتلا به سرطان معده

فاطمه نویسی[۱]، مرجان یغمایی[۲*]، حسین پاشایی‌فر[۲]، کامران علی‌مقدم[۲]، مسعود ایروانی[۳]، غلامرضا جوادی[۱]، اردشیر قوام زاده[۲]

۱- گروه زیست‌شناسی، واحد علوم و تحقیقات، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران.
۲- مرکز تحقیقات خون، انکولوژی و پیوند سلول‌های بنیادی، دانشگاه علوم پزشکی تهران، تهران، ایران.
۳- درمانگاه تخصصی گوارش و کبد مسعود، تهران، ایران.

[*] نویسنده مسئول: تهران، بزرگراه جلال آل احمد، بیمارستان شریعتی.
تلفن: ۸٤۹۰۲۷۰۹-۰۲۱
E-mail: m-yaghmaie@sina.tums.ac.ir

دریافت: ۱۳۹۸/۰٦/۲۰ ویرایش: ۱۳۹۸/۰٦/۲۷ پذیرش: ۱۳۹۸/۱۱/۲۰ آنلاین: ۱۳۹۸/۱۱/۳۰

چکیده

زمینه و هدف: سرطان معده یکی از شایع‌ترین انواع سرطان با پیش‌آگهی بد و درمان محدود در جهان می‌باشد. مطالعات اخیر نشان داده‌اند که ژن‌های *HER2*، *MYC*، *MDM2*، *MET* و *TP53* در ایجاد سرطان معده نقش بسیار مهمی دارند. بنابراین هدف از این مطالعه بررسی میزان تکثیر و حذف این ژن‌ها در این گروه از بیماران می‌باشد.

روش بررسی: در این مطالعه توصیفی ۳۷ نمونه بافت سرطان معده از بیماران مراجعه‌کننده به مرکز تحقیقات خون و انکولوژی و پیوند سلول‌های بنیادی بیمارستان شریعتی تهران از فروردین ۱۳۹٤ تا بهمن ۱۳۹٦ شامل ۲۳ (٦۲/۲٪) مرد و ۱٤ (۳۷/۸٪) زن مورد بررسی قرار گرفتند. سن بیماران در هنگام تشخیص بین ۲۳ تا ۸۵ سال بود. الگوی تکثیر ژن‌های *HER2*، *MDM2*، *MYC* و *MET* و حذف ژن *TP53* توسط روش هیبریدسازی درجای فلورسنت (FISH) بر روی برش‌های بافتی ۳ تا ۵ میکرونی بررسی شد.

یافته‌ها: تومورها به‌طور غالب (٥٤/۰۵٪) در ناحیه دیستال معده قرار داشتند. سایز تومورها بین ۲ تا ۵ cm متغیر بود. بیماری در ۷ (۱۹٪) مورد از بیماران به‌صورت پیشرفته تشخیص داده شده بود. ژن‌های *HER2*، *MDM2* و *c-MYC* به‌ترتیب در ۲ (٥/٤۱٪)، ۱ (۲/۷٪) و ۳ (۸/۱۱٪) از ۳۷ نمونه بیماران تکثیر نشان دادند. بااین‌حال تکثیر ژن *MET* و حذف ژن *TP53* مشاهده نشد. هم تکثیری ژن‌های *HER2*، *MDM2* و *MYC* در یک بیمار مشاهده شد و تکثیر همزمان ژن‌های *HER2* و *MYC* در یک بیمار دیگر شناسایی شد.

نتیجه‌گیری: نتایج این پژوهش نشان‌دهنده تکثیر ژن‌های *MDM2* و *HER2* و *MYC* با فراوانی کم در بیماران مبتلا به سرطان معده بود.

کلمات کلیدی: هیبریداسیون در جای فلوئورسنت، تکثیر ژنی، حذف ژنی، سرطان معده.

مقدمه

تغییر دزاژ ژنی یکی از مکانیسم‌های هدایت‌کننده سرطان است که به‌وسیله آن سلول سرطانی، ژن‌های دخیل در بقا و رشد سلولی را افزایش بیان می‌دهد. تغییر دزاژ ژنی در برخی از ژن‌ها برای انواع مختلف سرطان‌های انسانی به اثبات رسیده‌اند. به‌عنوان نمونه، تکثیر ژن *MDM2* و *MYC* به‌عنوان یک بیومارکر تشخیصی و پیش‌آگهی‌دهنده به‌ترتیب در لیپوسارکوما و سرطان پستان شناسایی شده‌اند.[۱و۲]

افزون‌براین *HER2/EGFR* به‌عنوان یک هدف درمانی در سرطان پستان و معده تشریح شده‌اند که بیشترین احتمال افزایش بیان ژن را به‌علت تکثیر ژنی دارند.[۳] مطالعات بی‌شمار دیگری تکثیر ژن *MET* را در انواع زیادی از سرطان‌ها گزارش داده‌اند.[٤] فراوانی تکثیر و افزایش بیان ژن *HER2* در بیماران مبتلا به سرطان معده و سرطان مری-معده در مطالعات مختلف بسیار متنوع است. به‌تازگی در مطالعه‌ای درحدود ۲٤٪ بیماران مبتلا به سرطان معده افزایش بیان و یا تکثیر ژن *HER2* را نشان داده‌اند.[۵] محصول انکوژنی *Her2/neu* در سرطان معده نوع

[Downloaded from tumj.tums.ac.ir on 2024-08-09]

اینتستینال به‌طور شایع تکثیر می‌یابد.[۶] نشان داده شده است که تکثیر و یا افزایش بیان انکوژن *Her2/neu* می‌تواند یک فاکتور پیش‌آگهی‌دهنده نامطلوب مستقل بالقوه باشد.[۷و۸] اگرچه مطالعات اولیه موفق به تعیین همراهی بین وضعیت ژن *HER2* و پیش‌آگهی بیماران مبتلا به سرطان معده نشدند ولی دیگر مطالعات همراهی مستقیم بین بیان *HER2* و بقای ضعیف بیماران مبتلا به سرطان معده را گزارش کرد.[۹] تکثیر ژن *MDM2* در سرطان معده برای اولین‌بار در سال ۲۰۰۰ میلادی در ۴۱٪ بیماران گزارش شد.[۱۰] تکثیر ژن *MYC* و افزایش بیان پروتیین آن در ۱۵ تا ۳۰٪ بیماران مبتلا به سرطان معده مشخص شد.[۱۱] مطالعات مختلف نشان داده‌اند که تکثیر ژن *MYC* می‌تواند یک پدیده جدی در سرطان‌زایی معده باشد. همچنین در گزارشات اخیر تکثیر ژن *MET* در حدود ۲۰٪ تومورهای معده گزارش شد.[۱۲و۱۳]

افزون‌برآن، در چندین مطالعه همراهی بین تکثیر و یا افزایش بیان ژن *MET* و زیست‌شناسی تومور مهاجم و پیامد بالینی نامطلوب در سرطان معده گزارش شده است.[۱۲و۱۴و۱۵] ژن سرکوب‌کننده تومور *TP53* شایع‌ترین ژن جهش‌یافته در سرطان می‌باشد و تغییرات سوماتیکی آن در حدود نیمی از سرطان‌های انسانی همانند سرطان معده، متعدد گزارش شده است. به‌هم‌ریختگی تنظیم مسیر *TP53* از راه‌های مختلف ایجاد می‌شود که شامل خاموش‌سازی اپی‌ژنتیکی، حذف آللی و افزیش بیان *MDM2* (مهارکننده *TP53*) است.[۱۶] به‌هرحال، اصلی‌ترین تغییر سوماتیکی *TP53* حذف تک‌آللی می‌باشد. مطالعات محدودی وجود دارند که تغییرات تعداد نسخه *TP53* را در سرطان معده نشان می‌دهند. در مطالعه‌ای، این تغییرات بین ۷ تا ۳۹٪ سلول‌های بیماران مبتلا به سرطان معده گزارش شده است.[۱۷]

هدف از این مطالعه بررسی میزان تکثیر ژن‌های *HER2*، *MDM2*، *MYC*، *MET* و حذف ژن *TP53* در بیماران مبتلا به سرطان معده با روش هیبریدسازی درجای فلورسنت در بیماران مبتلا به سرطان معده بود.

روش بررسی

در مجموع ۳۷ بیمار مبتلا به سرطان معده در این مطالعه وارد شدند. ویژگی‌های عمومی و بالینی بیماران در جدول ۱ ارایه شده است. فرم رضایت از همه بیماران به‌دست آمد. این مطالعه توسط کمیته اخلاق دانشگاه علوم پزشکی تهران تایید شد. درجه‌بندی پاتولوژی بیماری براساس سیستم دسته‌بندی متاستاز- نود-تومور تصحیح شده انجام گرفت.[۱۸] تشخیص بافت‌شناسی براساس معیار سازمان جهانی بهداشت صورت گرفت.[۱۹] هیچ‌کدام از بیماران پیش از نمونه‌برداری تحت شیمی‌درمانی و رادیوتراپی قرار نگرفته بودند. چندین برش متعدد از بافت سرطانی تثبیت‌شده در فرمالین و پارافین برای تحلیل Fluorescent in situ hybridization (FISH) مورد استفاده قرار گرفت.

بافت‌های تثبیت‌شده در پارافین به برش‌هایی به اندازه‌های ۳ تا ۵ میکرونی توسط Shandon Finesse™ Microtomes (Shandon Lipshaw, Pittsburgh, PA, USA) بریده شدند. یک اسلاید از هر بیمار رنگ‌آمیزی Hematoxylin and eosin (H&E) شد و ناحیه سلول‌های بدخیم توسط یک پاتولوژیست ماهر مشخص شد. برش‌ها روی اسلایدهای بار مثبت قرار گرفتند (Menzel-Gläster, Braunschweig, Germany)، توسط سریالی از اتانل و سپس خشک کردن دپارافینه و سپس دوباره آب‌دار شدند. از کیت پیش از تیمار بافت (Cytocell, Cambridge, UK) استفاده شد و اسلایدها در محلول پیش از تیمار سدیم تیوسیانات (pH 7.0) قرار داده شد، تا ۱۰۰ °C پیش گرمایی داده شد. سپس اسلایدها آب کشیده شد و محلول آنزیمی پپسین برای ۴۵ دقیقه در ۳۷ °C به‌کار رفت. اسلایدها توسط سریالی از اتانل آبگیری شدند و کار با محلول دناتوراسیون FISH و پروتکل هیبریداسیون ادامه پیدا کرد. پروب‌های *HER2/CE17*، *MDM2/CE12* و *TP53/NF1* از شرکت Cytocell و پروب‌های *cMET/CE7* و *cMYC/CE8* از شرکت (Metasystems GmbH, Altlussheim, Germany) روی سلول‌های بدخیمی که توسط پاتولوژیست ماهر مشخص شده بود به‌کار برده شدند.

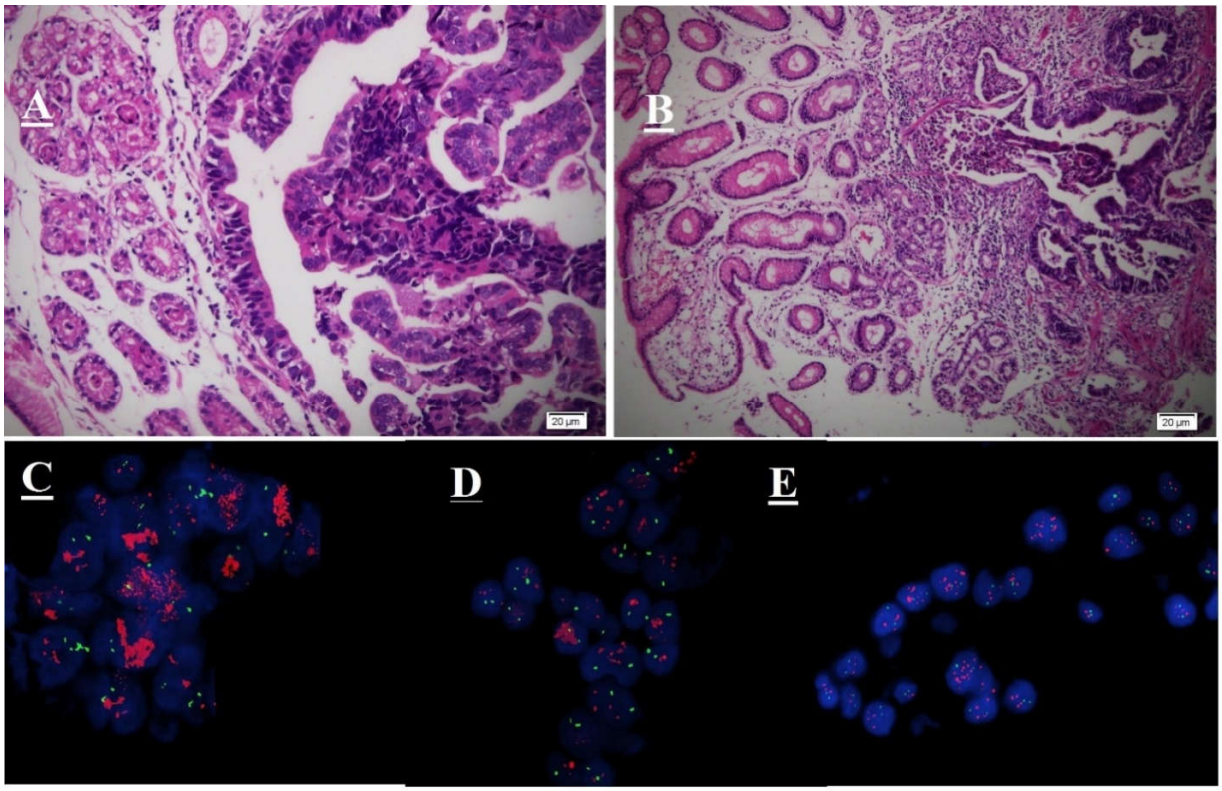
اسلایدها در دستگاه ThermoBrite™ (Abbott Molecular Inc., Abbott Park, IL, USA) قرار داده شدند که پنج دقیقه در دمای ۷۳ °C دناتوره و سپس در طول شب در دمای ۳۷ °C هیبریدسازی انجام داد. در ادامه هیبریدسازی، اسلایدها در ۰/۴ XSSC در دمای ۷۵ °C به‌مدت دو دقیقه، توسط Washing solution II (2x SSC / 0.1% NP-40) به‌مدت یک دقیقه در دمای اتاق شستشو شدند و سپس با DAPI II/antifade (Cytocell, Cambridge, UK) رنگ‌آمیزی افتراقی شدند. اسلایدهای هیبریدشده توسط میکروسکوپ Olympus BX51 (Olympus, Tokyo, Japan) با بزرگ‌نمایی ۱۰۰X با روغن ایمرسیون و با استفاده از فیلترهای سه رنگ DAPI/Green/Red مورد بررسی قرار گرفتند.

[Downloaded from tumj.tums.ac.ir on 2024-08-09]

یافته‌ها

۳۷ بیمار شامل ۲۳ مرد (۶۲/۲٪) و ۱۴ زن (۳۷/۸٪) در مطالعه کنونی وارد شدند. سن تشخیص بیماران در حیطه ۳۳ تا ۸۵ سال (میانه: ۶۵ سال) بود. تومورها به‌طور عمده در ناحیه دیستال معده (۵۴/۰۵٪) در مقایسه با تومورهای ایجادشده در قسمت کاردیا و یا از محل اتصال مری به معده (GEJ) شناسایی شده بود. اندازه تومورها بین ۲ تا ۵ cm (میانگین ۳/۵ cm) متغیر بود و تومور پیشرفته در هفت بیمار (۱۹٪) شناسایی شد.

نمونه‌های تومورهای تکثیرشده با توجه به ژن‌های مورد نظر در شکل ۱ نشان داده شده است. براساس حد مجاز تعیین‌شده تکثیر *HER2/CEP17*، *MDM2/CEP12* و *cMYC/CEP8* به‌ترتیب در ۲ (۵/۴۱٪)، ۱ (۲/۷۰٪) و ۳ (۸/۱۱٪) مورد از ۳۷ بیمار مشاهده شد. بااین‌حال، تکثیر ژن *c-MET* و حذف ژن *TP53* در پژوهش کنونی مشاهده نشد. به‌طور کل سه مورد از ۳۷ بیمار مبتلا به سرطان معده، تکثیر حداقل یک مورد از ژن‌های منتخب را نشان دادند (جدول ۱). تکثیر همزمان *HER2*، *MDM2* و *MYC* در یک بیمار مشاهده شد و تکثیر همزمان *HER2* و *MYC* در بیمار دیگر مشاهده شد. همچنین تکثیر ایزوله انکوژن *MYC* در یکی از بیماران نشان داده شده است (شکل ۱). تکثیر ژن‌های *HER2*، *MDM2* و *MYC* در تومورهای اینتستینال مشاهده شدند، بااین‌حال تغییرات تعداد نسخه ژن‌های مورد بررسی در سرطان معده نوع Diffuse مشاهده نشد.



شکل ۱: رنگ‌آمیزی هماتوکسیلین/ائوزین (H&E): A) بزرگ‌نمایی کم B) بزرگ‌نمایی زیاد. آدنوکارسینومای معده در سمت راست با غـدد نئوپلاسـتیک شـکل غیـرمنظم و نمای میکروپاپیلاری. سمت چپ شکل موکوس نرمال تولیدکننده موسین معده و نتایج FISH در بیماری با هم تکثیـری ژن‌هـای *HER2*، *MDM2* و *MYC* را نشـان می‌دهـد. C) تکثیر *HER2*، D) تکثیر *MDM2*، E) تکثیر *MYC*.

[Downloaded from tumj.tums.ac.ir on 2024-08-09]

جدول ۱: نمونه‌های سرطان معده با تکثیر ژن‌های مورد نظر

شماره بیمار	جنس/سن	نوع سرطان معده	کلاس‌بندی بافت‌شناسی	درجه	تکثیر *HER2*	تکثیر *MDM2*	تکثیر *MYC*	تکثیر *MET*
٤	مرد/ ٦٥	اینتستینال	تمایز ضعیف	III	٪٨٠	٪٧٠	٪٩٠	–
٢٦	مرد/ ٧٥	اینتستینال	تمایز خوب	II	٪٨٠	–	٪٧٠	–
٣٣	مرد/ ٦١	اینتستینال	آدنوکارسینوما	II	–	–	٪٩٠	–

بحث

در پژوهش کنونی ۳ (٪۸/۱۲) نفر از ۳۷ بیمار تکثیر حداقل یکی از ژن‌های انتخاب‌شده را داشتند. تکثیر ژنی تنها در سرطان معده نوع اینتستینال و بیماران بالای ٦٠ سال یافت شد. در همه بیماران دارای تکثیر ژنی (۳۷/۳)، ژن *MYC* به‌صورت مشترک تکثیر یافته بود.

تکثیر ژن *MYC* توسط روش لکه‌گذاری ساترن ۲٦-٤٪؛[۲۰و۲۱] ۳۰-٤٪ توسط روش هیبریدسازی ژنومی مقایسه‌ای معمولی (CGH)[۲۲] و ۷/۹-۱/۳٪ توسط روش FISH گزارش شده است.[۲۳و۲٤] پژوهش کنونی همخوانی با مطالعه پیشین داشت که توسط روش FISH تکثیر ژن *MYC* را بررسی کرده بود.[۲۳و۲٤] Calcagno و همکاران رخداد آنیوپلوییدی کروموزوم ۸ را به‌صورت مستقل از نوع بافت‌شناسی تومور تایید کردند اما تفاوت‌هایی در تکثیر و بیان ژن *MYC* بین سرطان معده نوع اینتستینال و Diffuse مشاهده کردند.[۲۵] بااین‌حال در پژوهش اخیر Stahl و همکاران در ۲۷ مورد از ۱۰۹ بیمار مبتلا به سرطان معده (٪۲٤/۸) تکثیر ژن *MYC* را گزارش کردند. میزان بالای تکثیر ژن *MYC* ممکن است به‌علت درجه بالای تنوع در بافت سرطان معده باشد. در این مطالعه ژن *HER2* در ٪۵/٤۱ موارد سرطان معده تکثیر یافته بود. در مطالعات پیشین، میزان فراوانی تکثیر و یا بیان ژن *HER2* در سرطان معده و سرطان مری-معده در طیف ٪٤/٤ تا ٪۵۳/٤ قرار داشت.[۲٦و۲۷] فراوانی مشاهده‌ی تکثیر ژن *HER2* (٪۵/٤۱) در سرطان معده در طیف مشابه مطالعه‌ای بر پایه FISH از Takehana و همکاران بود که دریافتند ژن *HER2* در ۸٪ موارد تکثیر یافته است.[۲۸] در پژوهش کنونی، تکثیر ژن *HER2* به‌صورت خاصی فقط در سرطان معده از نوع اینتستینال مشاهده شد. این داده‌ها همخوانی خوبی با مطالعه Tanner دارد که همراهی قویی بین تکثیر ژن *HER2* و سرطان معده از نوع اینتستینال را نشان داد.[۵]

در این مطالعه تکثیر ژن *MDM2* در یک بیمار مبتلا به سرطان معده (٪۲/۷) یافت شد. در پژوهش اخیر Akishi و همکاران توسط روش تکثیر پروب وابسته به اتصال چندگانه و روش FISH تکثیر ۲٦ ژن را در بیماران سرطان معده شناسایی کردند. نتایج آن‌ها تکثیر ژن *MDM2* را چهار مورد از ۹۳ (٤٪) بیمار مبتلا به سرطان معده نشان داد. مسیر MDM2/p53 قسمتی از روند سرطان‌زایی کارسینومای معده محسوب می‌شود. در پژوهش اخیر نشان داده شده است که سطح پروتیین MDM2 به‌صورت معناداری در سرطان معده افزایش می‌یابد و افزایش بیان این ژن همبستگی معناداری با ویژگی‌های بالینی-آسیب‌شناسی و کاهش بقای بیماران مبتلا به سرطان معده دارد.[۲۹] مطالعات پیشین نشان داده‌اند که جهش‌های کسب عملکرد ژن *MET* در سرطان معده بسیار نادر است و فعال‌سازی *MET* بیشتر با تکثیر ژن ارتباط دارد.[۳۰] بررسی‌های پیشین برپایه روش FISH تکثیر ژن *MET* را تا ٤٪ در بیماران سرطان معده نشان داده بود.[۳۱] به‌هرحال، نتایج پژوهش کنونی تکثیر ژن *MET* را در نمونه‌های بیماران مبتلا به سرطان معده در این مطالعه یافت نکرد که می‌تواند به علت کوچکی تعداد نمونه‌های مطالعه کنونی باشد.

نتایج پژوهش کنونی، هم تکثیری دست‌کم دو مورد از چهار ژن انتخاب‌شده را در دو بیمار نشان داد که شامل هم تکثیری ژن‌های *HER2*، *MDM2* و *MYC* در یک بیمار و هم تکثیری ژن‌های *MYC* و *HER2* در بیمار دیگر بود. اهمیت پیش‌آگهی هم تکثیری دو انکوژن در بیماران مبتلا به سرطان معده هنوز مشخص نشده است. بااین‌حال مطالعات پیشین روی سرطان پستان مشخص کرد که بیماران دارای هم تکثیری *HER2* و *MYC* پیامد بالینی بدتری نسبت به بیماران دارای یک ژن تکثیرشده دارند.[۳۲]

در پژوهش کنونی حذف ژنی *TP53*، در نمونه‌های مورد بررسی مشاهده نشد که پیشنهادکننده این امر است که حذف ژن *TP53* در افراد مبتلا به سرطان معده ایرانی شایع نمی‌باشد. بااین‌وجود فراوانی

[Downloaded from tumj.tums.ac.ir on 2024-08-09]

اندک حذف ژن *Tp53* ممکن است به‌علت دیگر وقایع جهشی در ژن *p53* باشد که باید در پژوهش‌های آتی مورد توجه قرار بگیرد. نتایج این پژوهش نشان‌دهنده تکثیر ژن‌های *MDM2*، *HER2* و *MYC* با فراوانی کم در بیماران مبتلا به سرطان معده بود.

سپاسگزاری: این مقاله حاصل (بخشی از) طرح تحقیقاتی تحت عنوان "بررسی اهمیت Prognostic و Predictive انکوژن‌های *C-MYC*, *C-MET*, *HER2*, *MDM2* و تومورساپرسور *TP53* بر روی سلول‌های توموری و اگزوزم‌های غنی‌شده در گردش مایع آسیت و خون بیماران مبتلا به سرطان معده و مقایسه آن با نمونه بافت با بهره‌گیری از تکنیک FISH" مصوب دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی درمانی تهران در سال ١٣٩٤ به کد ١٧١٤٠ می‌باشد که با حمایت دانشگاه علوم پزشکی خدمات بهداشتی درمانی تهران اجرا شده است.

References

1. Crago AM, Singer S. Clinical and molecular approaches to well differentiated and dedifferentiated liposarcoma. *Curr Opin Oncol* 2011;23(4):373-8.
2. Liao D, Dickson R. c-Myc in breast cancer. *Endocr Relat Cancer* 2000;7(3):143-64.
3. Sauter G, Lee J, Bartlett JM, Slamon DJ, Press MF. Guidelines for human epidermal growth factor receptor 2 testing: biologic and methodologic considerations. *J Clin Oncol* 2009;27(8):1323-33.
4. Sierra JR, Tsao MS. c-MET as a potential therapeutic target and biomarker in cancer. *Ther Adv Med Oncol* 2011;3(1 Suppl):S21-35.
5. Tanner M, Hollmén M, Junttila TT, Kapanen AI, Tommola S, Soini Y, et al. Amplification of HER-2 in gastric carcinoma: association with Topoisomerase IIalpha gene amplification, intestinal type, poor prognosis and sensitivity to trastuzumab. *Ann Oncol* 2005;16(2):273-8.
6. Deng N, Goh LK, Wang H, Das K, Tao J, Tan IB, et al. A comprehensive survey of genomic alterations in gastric cancer reveals systematic patterns of molecular exclusivity and co-occurrence among distinct therapeutic targets. *Gut* 2012;61(5):673-84.
7. Park DI, Yun JW, Park JH, Oh SJ, Kim HJ, Cho YK, et al. HER-2/neu amplification is an independent prognostic factor in gastric cancer. *Dig Dis Sci* 2006;51(8):1371-9.
8. Allgayer H, Babic R, Gruetzner KU, Tarabichi A, Schildberg FW, Heiss MM. c-erbB-2 is of independent prognostic relevance in gastric cancer and is associated with the expression of tumor-associated protease systems. *J Clin Oncol* 2000;18(11):2201-9.
9. Gravalos C, Jimeno A. HER2 in gastric cancer: a new prognostic factor and a novel therapeutic target. *Ann Oncol* 2008;19(9):1523-9.
10. Günther T, Schneider-Stock R, Häckel C, Kasper HU, Pross M, Hackelsberger A, et al. Mdm2 gene amplification in gastric cancer correlation with expression of Mdm2 protein and p53 alterations. *Mod Pathol* 2000;13(6):621-6.
11. Matsui A, Ihara T, Suda H, Mikami H, Semba K. Gene amplification: mechanisms and involvement in cancer. *Biomol Concepts* 2013;4(6):567-82.
12. Kuniyasu H, Yasui W, Kitadai Y, Yokozaki H, Ito H, Tahara E. Frequent amplification of the c-met gene in scirrhous type stomach cancer. *Biochem Biophys Res Commun* 1992;189(1):227-32.
13. Sakakura C, Mori T, Sakabe T, Ariyama Y, Shinomiya T, Date K, et al. Gains, losses, and amplifications of genomic materials in primary gastric cancers analyzed by comparative genomic hybridization. *Genes Chromosomes Cancer* 1999;24(4):299-305.
14. Birchmeier C, Birchmeier W, Gherardi E, Vande Woude GF. Met, metastasis, motility and more. *Nat Rev Mol Cell Biol* 2003;4(12):915-25.
15. Nakajima M, Sawada H, Yamada Y, Watanabe A, Tatsumi M, Yamashita J, et al. The prognostic significance of amplification and overexpression of c-met and c-erb B-2 in human gastric carcinomas. *Cancer* 1999;85(9):1894-902.
16. Szymańska K, Hainaut P. TP53 and mutations in human cancer. *Acta Biochim Pol* 2003;50(1):231-8.
17. Khayat AS, Guimarães AC, Calcagno DQ, Seabra AD, Lima EM, Leal MF, et al. Interrelationship between TP53 gene deletion, protein expression and chromosome 17 aneusomy in gastric adenocarcinoma. *BMC Gastroenterol* 2009;9:55.
18. Sobin LH. TNM classification: clarification of number of regional lymph nodes for pN0. *Br J Cancer* 2001;85(5):780.
19. Jass JR, Sobin LH, Watanabe H. The World Health Organization's histologic classification of gastrointestinal tumors. A commentary on the second edition. *Cancer* 1990;66(10):2162-7.
20. Ranzani GN, Pellegata NS, Previderè C, Saragoni A, Vio A, Maltoni M, et al. Heterogeneous protooncogene amplification correlates with tumor progression and presence of metastases in gastric cancer patients. *Cancer Res* 1990;50(24):7811-4.
21. Nakata B, Onoda N, Chung YS, Maeda K, Nishimura S, Yashiro M, et al. Correlation between malignancy of gastric cancer and c-myc DNA amplification or overexpression of c-myc protein. *Gan To Kagaku Ryoho* 1995;22 Suppl 2:176-9.
22. Tsukamoto Y, Uchida T, Karnan S, Noguchi T, Nguyen LT, Tanigawa M, et al. Genome-wide analysis of DNA copy number alterations and gene expression in gastric cancer. *J Pathol* 2008;216(4):471-82.
23. Tajiri R, Ooi A, Fujimura T, Dobashi Y, Oyama T, Nakamura R, et al. Intratumoral heterogeneous amplification of ERBB2 and subclonal genetic diversity in gastric cancers revealed by multiple ligation-dependent probe amplification and fluorescence in situ hybridization. *Hum Pathol* 2014;45(4):725-34.
24. Koo SH, Kwon KC, Shin SY, Jeon YM, Park JW, Kim SH, et al. Genetic alterations of gastric cancer: comparative genomic hybridization and fluorescence In situ hybridization studies. *Cancer Genet Cytogenet* 2000;117(2):97-103.
25. Calcagno DQ, Freitas VM, Leal MF, de Souza CR, Demachki S, Montenegro R, et al. MYC, FBXW7 and TP53 copy number variation and expression in gastric cancer. *BMC Gastroenterol* 2013;13:141.
26. He C, Bian XY, Ni XZ, Shen DP, Shen YY, Liu H, et al. Correlation of human epidermal growth factor receptor 2 expression with clinicopathological characteristics and prognosis in gastric cancer. *World J Gastroenterol* 2013;19(14):2171-8.
27. Abrahao-Machado LF, Scapulatempo-Neto C. HER2 testing in gastric cancer: An update. *World J Gastroenterol* 2016;22(19):4619-25.

[Downloaded from tumj.tums.ac.ir on 2024-08-09]

28. Takehana T, Kunitomo K, Kono K, Kitahara F, Iizuka H, Matsumoto Y, et al. Status of c-erbB-2 in gastric adenocarcinoma: a comparative study of immunohistochemistry, fluorescence in situ hybridization and enzyme-linked immuno-sorbent assay. *Int J Cancer* 2002;98(6):833-7.
29. Ye Y, Li X, Yang J, Miao S, Wang S, Chen Y, et al. MDM2 is a useful prognostic biomarker for resectable gastric cancer. *Cancer Sci* 2013;104(5):590-8.
30. Park WS, Oh RR, Kim YS, Park JY, Shin MS, Lee HK, et al. Absence of mutations in the kinase domain of the Met gene and frequent expression of Met and HGF/SF protein in primary gastric carcinomas. *APMIS* 2000;108(3):195-200.
31. Kawakami H, Okamoto I, Arao T, Okamoto W, Matsumoto K, Taniguchi H, et al. MET amplification as a potential therapeutic target in gastric cancer. *Oncotarget* 2013;4(1):9-17.
32. Al-Kuraya K, Schraml P, Torhorst J, Tapia C, Zaharieva B, Novotny H, et al. Prognostic relevance of gene amplifications and coamplifications in breast cancer. *Cancer Res* 2004;64(23):8534-40.

[Downloaded from tumj.tums.ac.ir on 2024-08-09]

TUMJ Tehran University Medical Journal, February 2020; Vol. 77, No. 11: 678-684 Original Article

Evaluation of *HER2*, *MDM2*, *MYC*, *MET* and *TP53* gene copy number alterations in gastric cancer patients

Fatemeh Nevisi Ph.D.[1]
Marjan Yaghmaie Ph.D.[2*]
Hossein Pashaiefar Ph.D.[2]
Kamran Alimoghaddam M.D.[2]
Masoud Iravani M.D.[3]
Gholamreza Javadi Ph.D.[1]
Ardeshir Ghavamzadeh M.D.[2]

1- Department of Biology, Science and Research Branch, Islamic Azad University, Tehran, Iran.
2- Hematology, Oncology and Stem Cell Transplantation Research Center, Tehran University of Medical Sciences, Tehran, Iran.
3- Masood Gastroenterology and Hepatology Clinic, Tehran, Iran.

[*] Corresponding author: Shariati Hospital, Jalal-e-Al-e-Ahmad Highway, Tehran, Iran.
Tel: +98-21-84902709
E-mail: m-yaghmaie@sina.tums.ac.ir

Abstract

Received: 11 Sep. 2019 Revised: 18 Sep. 2019 Accepted: 09 Feb. 2020 Available online: 19 Feb. 2020

Background: Gastric cancer (GC) is considered as one of the most common types of cancer worldwide with poor prognosis and generally limited treatment options. Recent studies have indicated that *HER2*, *MDM2*, *MYC*, *MET*, and *TP53* play an important role in the development of gastric cancer. Therefore, the aim of this study was to evaluate the incidence of amplification/deletion of these genes in patients with gastric cancer.

Methods: In this descriptive study, a total of 37 gastric cancer tissue samples from GC patients including 23 males (62.2%) and 14 females (37.8%) referred to the Hematology-Oncology and Stem Cell Research Center of Shariati Hospital, Tehran, from March 2015 to February 2016 were evaluated. The patient's age at diagnosis ranged from 33 to 85 years (median: 65 years). The amplification pattern of *HER2*, *MDM2*, *MYC* and *MET* genes and *TP53* deletion were investigated by fluorescence in situ hybridization (FISH) technique performed on 3 to 5 micron section obtained from formalin-fixed and paraffin-embedded cancer tissues.

Results: The tumors were preferably identified at the distal stomach (54.05%) in comparison to tumors arising from the gastric cardia. The tumor size varied between 2 and 5 cm (average, 3.5 cm). Seven of the cases (19%) had advanced tumors at the time of diagnosis. *HER2*, *MDM2*, *MYC*, *MET* and *TP53* copy number alteration were successfully determined in all samples obtained from the GC patients. *HER2*, *MDM2*, and *c-MYC* genes were amplified in 2 (5.41%), 1 (2.7%) and 3 (8.11%) of 37 patient samples, however, *MET* gene amplification and *TP53* deletion were not observed in the obtained GC tissue samples. Co-amplification of *HER2*, *MDM2*, and *MYC* genes, and co-amplification of *HER2* and *MYC* genes were detected in one patient.

Conclusion: The results of this study indicate the low frequency of MDM2, HER2 and MYC genes in gastric cancer patient and their copy number alterations may provide diagnostic and prognostic marker for GC patients.

Keywords: fluorescence in situ hybridization, gene amplification, gene deletion, stomach neoplasms.

[Downloaded from tumj.tums.ac.ir on 2024-08-09]