

## مطالعه وابستگی ال‌های ژن‌های HLA-class II (HLA-DRB1/DQA1/DQB1) و سرطان پستان

تاریخ دریافت مقاله: ۱۳۸۹/۰۶/۱۶ تاریخ پذیرش: ۱۳۸۹/۰۷/۱۹

### چکیده

**زمینه و هدف:** بر اساس بعضی از مطالعات، فراوانی بیش از حد طبیعی ال‌های خاصی از ژن‌های HLA-class II می‌تواند همراه با مستعد بودن فرد به ابتلا به سرطان خاصی باشد. در این مطالعه فراوانی ال‌های بعضی از جایگاه‌های ژنی HLA-class II در زنان ایرانی مبتلا به کانسر پستان در مقایسه با افراد سالم بررسی شده است. **روش بررسی:** ۱۰۰ نفر از داوطلبین زن مبتلا به کانسر پستان (که از نظر پاتولوژی تأیید شده بود) در دو گروه زیر ۴۰ سال و بالای ۴۰ سال سن انتخاب شدند و با ۸۰ نفر فرد سالم مقایسه گردیدند. از خون محیطی هر داوطلب، فراوانی ال‌های هر یک از جایگاه‌های ژنی HLA-DRB1، HLA-DQA1 و HLA-DQB1 تعیین گردید. **یافته‌ها:** نتایج این مطالعه نشان داد که در گروه بیماران زیر ۴۰ سال ال‌هایی که بیشترین فراوانی را در مقایسه با گروه کنترل داشت شامل HLA-DQA1\*۰۳۰۱ (p=۰/۰۰۲) و HLA-DQB1\*۰۳۰۲ (p<۰/۰۵) بود و ال‌هایی که کمترین فراوانی را در مقایسه با گروه کنترل داشت HLA-DQA1\*۰۵۰۵ (p=۰/۰۰۴) بود. در گروه بیماران بالای ۴۰ سال، ال‌هایی که بیشترین فراوانی را در مقایسه با گروه کنترل داشت شامل HLA-DQA1\*۰۳۰۱ (p=۰/۰۰۱) و HLA-DRB1\*۱۳۰۳ (p=۰/۰۲) بود و در این گروه ال‌هایی که کمترین فراوانی را در مقایسه با گروه کنترل داشت، HLA-DQA1\*۰۱۰۱ (p=۰/۰۰۲) بود. **نتیجه‌گیری:** نتایج به دست آمده که حاکی از مرتبط بودن فراوانی بعضی از ال‌های HLA class II در استعداد افراد به ابتلا به سرطان پستان و یا مقاومت در برابر این بیماری می‌باشد، این نتایج احتمالاً نشان می‌دهد که چگونگی اثر وراثت در ابتلا به بیماری در سنین جوانی در مقایسه با سنین بالا متفاوت است.

**کلمات کلیدی:** کانسر پستان، فراوانی ال‌ها، مولکول‌های سازگاری نسجی.

علی اکبر امیر زرگر<sup>۱</sup>، مجید محمودی<sup>۱\*</sup>، هدایت ال. نحوی<sup>۱</sup>، امیر کسائیانی<sup>۱</sup>، زهرا صفری<sup>۱</sup>، مهدی محمودی<sup>۲</sup>، یداله شکیبیا<sup>۲</sup>، کوروس دیوسالار<sup>۳</sup>، عباس جعفری<sup>۱</sup>، بیتا انصارپور<sup>۲</sup>، بتول مرادی<sup>۲</sup>، محمدعلی محقق<sup>۱</sup>

۱- گروه انستیتو کانسر، مرکز تحقیقات سرطان

۲- مرکز تحقیقات ایمونولوژی مولکولی

دانشگاه علوم پزشکی تهران، تهران، ایران.

۳- مرکز تحقیقات علوم اعصاب، دانشگاه علوم پزشکی کرمان، کرمان، ایران.

\* نویسنده مسئول: تهران، انتهای بلوار کشاورز، مجتمع بیمارستانی امام خمینی (ره)، کد پستی ۱۴۱۹۷  
تلفن: ۶۱۱۹۲۵۰۱  
email: dmahmoodi@razi.tums.ac.ir

### مقدمه

هستند که در سطح سلول‌های عرضه‌کننده آنتی‌ژن از قبیل سلول‌های دندریتیک، ماکروفاژها و لنفوسیت‌های B مشاهده می‌شوند.<sup>۴</sup> لنفوسیت‌های فعال T کمکی (CD4+T-cells) که از عناصر مهم در پاسخ‌های ایمنی است، آنتی‌ژن‌های توموری را زمانی شناسایی می‌نمایند که همراه مولکول‌های سازگار نسجی (Class II) در سطح سلول عرضه گردند. لذا پاسخ ایمنی مناسب بر علیه آنتی‌ژن‌های تومور نیازمند دخالت و مشارکت سلول‌های CD4+T-cells و مولکول‌های سازگار نسجی (Class II) می‌باشد و این مولکول‌ها پاسخ‌های ایمنی علیه تمام آنتی‌ژن‌های توموری را کنترل می‌نمایند<sup>۵</sup> و لذا ژن‌های مولکول‌های سازگاری نسجی بیان‌کننده خصوصیت توانمندی افراد در مقابل ابتلا به سرطان‌ها می‌باشند. ژن‌هایی که

کانسر پستان (Breast cancer) یکی از بدخیمی‌های کشنده در جمعیت زنان دنیا به‌شمار می‌رود و حدود ۱۸٪ از کانسرها در این جمعیت، سرطان پستان می‌باشد.<sup>۱</sup> فاکتورهای متعددی در بروز این بیماری دخالت دارند. عوامل ژنتیکی، نواقص هورمونی، اثرات محیطی و شغلی و حتی عوامل عفونی می‌توانند در بروز این بیماری نقش داشته باشند.<sup>۲،۳</sup> از جمله عوامل ژنتیکی، ژن‌ها و یا ال‌های مولکول‌های سازگار نسجی (MHC و یا HLA در انسان) می‌باشند که می‌توانند در ابتلا افراد به کانسر پستان و یا در مقاومت فرد در برابر این بیماری دخالت و یا فعالیت داشته باشند. مولکول‌های HLA-class II که توسط این ژن‌ها بیان می‌گردند، مولکول‌های گلیکوپروتئینی

دانشگاه علوم پزشکی تهران انجام گرفت. این بیماران جهت تشخیص و درمان تومور سینه مراجعه می‌نمودند. مطالعه مزبور به مدت ۲۸ ماه، از بهمن ماه ۱۳۸۵ لغایت اردیبهشت ماه ۱۳۸۸، به طول انجامید. بیماران مورد مطالعه در این پژوهش از دو گروه زیر پی‌گیری و انتخاب شدند: گروه اول شامل زنان مبتلا به کانسر پستان که در سنین ۴۰ سال و یا کمتر بودند (با داشتن گزارش پاتولوژی حاکی از بدخیم بودن تومور سینه در پرونده هر یک). گروه دوم شامل زنان مبتلا به کانسر پستان که بیشتر از ۴۰ سال سن داشتند (با داشتن گزارش پاتولوژی حاکی از بدخیم بودن تومور سینه در پرونده هر یک از آنها). در نهایت ۴۹ نفر از گروه اول و ۵۱ نفر از گروه دوم، انتخاب و مورد بررسی از نظر HLA-typing قرار گرفتند. از هر فرد مورد مطالعه در این پژوهش یک پرسشنامه و یک فرم رضایت‌نامه تهیه گردید. معیارهای کلینیکی ورود بیماران به این مطالعه شامل بود بر عدم ابتلا به HIV و یا بیماری عفونی دیگری غیر از کانسر پستان، همچنین عدم ابتلا به بیماری‌های اتوایمون و یا بیماری‌های دیگری که در ارتباط با HLA می‌بود نظیر دیابت و اختلالات غده تیروئید. جهت بررسی از هر بیمار حدوداً ۵ml خون وریدی گرفته شد. گروه کنترل هم متشکل از ۸۰ فرد سالم از مراجعه‌کنندگان به سازمان ملی انتقال خون بود. تمام معیارهای ورود به مطالعه جهت بیماران، برای گروه کنترل هم در نظر گرفته شد و از ۵ml خون اهدایی آنها، آزمایشات HLA انجام گردید. این مطالعه توسط کمیته اخلاق پزشکی مجتمع بیمارستانی امام‌خمینی (ره) مورد تصویب قرار گرفت. جداسازی DNA به طریق Salting out of the cellular proteins بود که در این روش در ابتدا گلبول‌های قرمز خون (RBC) را با استفاده از Lysis buffer-1، لیز نمودیم و از محیط خارج گردید، سپس گلبول‌های سفید (WBC) را که رسوب می‌نمایند بعد از شستشو، توسط Nuclei lysis buffer و سپس گلبول‌های سفید لیز شده را توسط SDS (۱۰٪) و محلول Protease K هضم (Digest) گردید. بعد از هضم کامل گلبول‌های سفید لیز شده، سدیم کلراید غلیظ (شش ملار) به آن اضافه نمودیم، بعد از مخلوط نمودن به مدت ۱۵ ثانیه، محلول حاصل را به مدت ۱۵ دقیقه با دور ۲۵۰۰rpm سانتریفوژ گردید، محلول رویی که حاوی DNA سلول‌ها می‌باشد را جدا نموده و پروتئین‌های رسوب شده را از محیط خارج نمودیم. با اضافه نمودن دو حجم از اتانول مطلق به محلول حاوی DNA و مخلوط نمودن آن، DNA

مولکول‌های سازگاری نسجی را بیان می‌نمایند هر یک شدیداً پلی مورف بوده و برای برخی از جایگاه‌های ژنی HLA که بر روی کروموزوم شش قرار دارد بیش از ۴۰۰ ال‌شناسایی شده. پدیده پلی-مورفیسم در این ژن‌ها باعث افزایش تعداد مولکول‌های HLA که توسط این ژن‌ها بیان می‌گردد شده و منجر به افزایش توانایی این مولکول‌ها برای عرضه آنتی‌ژن‌های مختلف به سلول‌های T خواهد شد.<sup>۶،۷</sup> از طرفی مطالعات اپیدمیولوژیک نشان داده که خطر ابتلا به بعضی از سرطان‌ها در نژادها و یا در جمعیت‌های مختلف متفاوت است و حتی ممکن است میزان شیوع در هر جمعیتی در سنین خاصی صورت گیرد، به طوری که در زنان آسیایی حداکثر شیوع تومور پستان در سنین بین ۵۰-۴۰ سالگی است، در حالی که در زنان کشورهای غربی حداکثر شیوع این سرطان از سنین ۵۰ سالگی به بعد است.<sup>۸</sup> این تفاوت‌ها احتمالاً به فاکتورهای ژنتیکی در این جمعیت‌ها مربوط خواهد شد. مطالعات ژنتیکی که بر روی تومورهای انسانی مختلف صورت گرفته نشان می‌دهد که استعداد افراد به ابتلا به بعضی از تومورها و یا عدم ابتلا به آن تومور ممکن است همراه با فراوانی ال‌خاصی در آن فرد و یا در جمعیتی که در آن زندگی می‌نماید باشد. از جمله این مطالعات شامل گزارش‌هایی است که در مورد کانسر سرویکس،<sup>۹</sup> کارسینوما پاپیلاری تیروئید (Papillary thyroid carcinoma)،<sup>۱۰</sup> معده<sup>۱۱</sup> و تخمدان<sup>۱۲</sup> صورت گرفته، می‌باشد. که در این مطالعات، فراوانی ال‌خاصی را همراه با ابتلا افراد آن جمعیت به آن تومور خاص گزارش شده است. در عین حال با مطالعه‌ای که بر روی کانسر نازوفارنکس صورت گرفته، تقارنی در ابتلا به این تومور با فراوانی ال‌های HLA-class II در جمعیت مورد مطالعه مشاهده نشده است.<sup>۱۳</sup> در مطالعه حاضر فراوانی ال‌های مختلف در جایگاه‌های ژنی HLA-DRB1, -DQB1, -DQA1 در دو گروه از زنان بیمار، با سنین ۴۰ و یا کمتر از ۴۰ سال (گروه ۱) و سنین بالای ۴۰ سال (گروه ۲) مبتلا به کانسر پستان در مقایسه با گروه کنترل (متشکل از افراد سالم و در سنین یکسان با گروه بیماران) بررسی گردیده است.

## روش بررسی

این بررسی به صورت یک مطالعه مورد-شاهد بر روی نمونه‌های خون محیطی بیماران زن مراجعه‌کننده به درمانگاه مرکز سرطان (انستیتو کانسر) واقع در مجتمع بیمارستانی امام‌خمینی (ره) وابسته به

کنترل عملکرد تست (کنترل عملکرد آزمون، پرایمرها و مواد PCR) از Internal control primer استفاده شد. جهت تعیین اختلاف در فراوانی ال‌های HLA در بین گروه‌های مختلف از آزمون  $\chi^2$  استفاده و فراوانی هر ال در هر گروه بیماران با فراوانی همان ال در گروه کنترل مقایسه گردید. Odds ratio و Confidence intervals/۹۵ محاسبه و سطح معنی‌داری در این آزمون کمتر از ۰/۰۵ می‌باشد.

### یافته‌ها

فراوانی هر ال در هر یک از جایگاه‌های ژنی DRB1، DQA1 و DQB1 در دو گروه از بیماران در مقایسه با گروه کنترل در جداول ۱ و ۲ نشان داده شده است. در گروه ۱ (زیر ۴۰ سال) در منطقه ژنی DR و DQ ال‌هایی که بیشترین فراوانی را در مقایسه با گروه

محلوس رسوب و جدا گردید.<sup>۱۴،۱۵</sup> برای تعیین ال‌های مختلف HLA-DRB1، HLA-DQA1 و HLA-DQB1 از روش Polymerase Chain Reaction (PCR) برای تکثیر DNA و HLA-typing با به‌کارگیری پرایمرهای اختصاصی برای هر ال استفاده شد که مطابق با روش شرح داده شده توسط Zetterquist و Olerup انجام شد.<sup>۱۶</sup> در این روش عمل تکثیر Complementary DNA هر یک از ال‌ها در دستگاه ترموسیکل صورت گرفت. سپس محصول PCR با استفاده از ژل آگاروز دو درصد الکتروفورز گردید. بر اساس وجود و یا عدم وجود باندهای اختصاصی، وجود ال‌های مورد نظر با استفاده از UV trans-illuminator مورد بررسی قرار گرفت. در این روش با استفاده از ۲۱ پرایمر اختصاصی جهت ال‌های HLA-DQA1 و HLA-DQB1 و ۱۷ پرایمر اختصاصی جهت ال‌های HLA-DRB1 استفاده شد. به‌منظور

جدول-۱: میزان فراوانی ال‌های ژن‌های HLA-DQA1، HLA-DQB1 و HLA-DRB1 در زنان مبتلا به کانسر پستان ( $\geq 40$  سال) در مقایسه با گروه کنترل (افراد سالم). فراوانی ال‌های جایگاه ژنی DRB1 بدون اختلاف معنی‌دار با گروه کنترل حذف شد.

DQA1 alleles	گروه بیماران مبتلا به سرطان پستان با سنین ۴۰ و یا زیر ۴۰ سال (۴۹ نفر)		گروه کنترل شامل افراد سالم (۸۰ نفر)		p*
	تعداد ال‌ها	درصد	تعداد ال‌ها	درصد	
*0101	۴	۴/۰۸	۱۳	۸/۱	۰/۰۳
*01021	۱۰	۱۰/۲	۲۰	۱۲/۵	۰/۶۹
*0103	۹	۹/۱۸	۲۲	۱۳/۷	۰/۳۲
*0104	۸	۸/۱۶	۱۵	۹/۳	۰/۸۲
*0201	۱۹	۱۹/۳۸	۲۱	۱۳/۱	۰/۲۱
*0301	۲۱	۲۱/۴۲	۱۲	۷/۵	۰/۰۰۲
*0401	۲	۲/۰۴	۵	۳/۱	۰/۷۱
*0501	۱۴	۱۴/۲۸	۱۵	۹/۳	۰/۳۱
*0505	۹	۹/۱۸	۳۷	۲۳/۱	۰/۰۰۴
<b>DQB1 alleles</b>					
*0201	۲۵	۲۵/۵۰	۳۰	۱۸/۷	۰/۲۱
*0301	۲۳	۲۳/۴۶	۳۷	۲۳/۱	۱
*0302	۱۱	۱۱/۲۲	۷	۴/۴	۰/۰۴۵
*0303	۱	۱	۷	۴/۴	۰/۱۶
*0401	۳	۳/۰۶	۴	۲/۵	۱
*0501	۱۲	۱۲/۲۴	۲۲	۱۳/۷	۰/۸۵
*0502	۳	۳	۹	۵/۶	۰/۳۸
*0601	۷	۷/۱۴	۱۱	۶/۹	۱
*0602	۴	۴/۰۸	۲۰	۱۲/۵	۰/۰۲۷
*0603	۳	۳	۰	۰	۰/۰۵۴
*0604	۵	۵/۱۰	۶	۳/۸	۰/۷۵
<b>DRB1 alleles</b>					
*0101	۲	۲/۰۴	۱۳	۸/۱	۰/۰۵۱
*0401	۱۵	۱۵/۳۰	۱۲	۷/۵	۰/۰۴۹

\*آزمون آماری  $\chi^2$  در این آزمون  $p < 0/05$  معنی‌دار در نظر گرفته شد.

جدول ۲- میزان فراوانی الل‌های ژن‌های HLA-DQA1, HLA-DQB1 و HLA-DRB1 در زنان مبتلا به کانسر پستان (<40 سال) در مقایسه با گروه کنترل (افراد سالم). فراوانی الل‌های جایگاه ژنی DQB1 و DRB1 بدون اختلاف معنی‌دار با گروه کنترل حذف شد.

P*	گروه کنترل شامل افراد سالم (۸۰ نفر)		گروه بیماران مبتلا به سرطان پستان با سنین بالاتر از ۴۰ سال (۵۱ نفر)		DQA1 alleles
	درصد	تعداد الل‌ها	درصد	تعداد الل‌ها	
۰/۰۰۲	۸/۱	۱۳	۰	۰	*0101
۰/۷	۱۲/۵	۲۰	۱۰/۷	۱۱	*01021
۰/۵۹	۱۳/۷	۲۲	۱۶/۶۶	۱۷	*0103
۱	۹/۳	۱۵	۸/۸۲	۹	*0104
۱	۱۳/۱	۲۱	۱۲/۷۴	۱۳	*0201
۰/۰۰۱	۷/۵	۱۲	۲۱/۵۶	۲۲	*0301
۰/۴۱	۳/۱	۵	۰/۹۸	۱	*0401
۰/۲۳	۹/۳	۱۵	۱۴/۷	۱۵	*0501
۰/۰۳	۲۳/۱	۳۷	۱۲/۷۴	۱۳	*0505
					<b>DRB1 alleles</b>
۰/۱۱	۸/۱	۱۳	۲/۹	۳	*0101
۰/۰۴۲	۷/۵	۱۲	۱۵/۶	۱۶	*0301
۰/۰۰۴	۷/۵	۱۲	۰	۰	*1301
۰/۴۸	۳/۷۵	۶	۱/۹۶	۲	*1302
۰/۰۲۲	۰	۰	۳/۹	۴	*1303

\*آزمون آماری  $\chi^2$  در این آزمون  $p < 0.05$  معنی‌دار در نظر گرفته شد.

## بحث

مطالعات مختلف نشان داده که فراوانی بعضی از الل‌ها در جایگاه‌های ژنی HLA-class I و یا HLA-class II از فاکتورهای مهمی است در تعیین استعداد افراد به ابتلا به بعضی از تومورها و یا عدم ابتلا آتی آن‌ها به کانسره‌های خاص می‌باشد.<sup>۱۷ و ۱۸</sup> همین‌طور سیستم HLA نقش مهمی در مجهز نمودن لنفوسیت‌های T سیتوتوکسیک بر علیه آنتی‌ژن‌های توموری و یا به طور کلی در پیشبرد پاسخ ایمنی بر علیه تومور دارد. از طرفی مولکول‌های HLA-class II با مشارکتی که با سلول‌های کمکی CD4+T-cells دارند در پیشبرد سیستم دفاعی بدن علیه کلیه عوامل عفونی از جمله ویروس‌های تومور ژن، نقش مهمی را ایفا می‌نماید. گزارشات متعددی هم بیان‌کننده این موضوع می‌باشند که الل‌های خاصی از ژن‌های HLA-class II می‌تواند بر خطر ابتلا و یا عدم ابتلا فرد به تومور اثر بگذارد.<sup>۹-۱۲</sup> بدین جهت هر گونه مطالعه‌ای که به مشخص نمودن میزان ارتباط فراوانی الل‌های خاص و یا هاپلوتیپ‌های آن‌ها با بروز تومور و یا عدم بروز تومور کمک نماید

کنترل داشتند شامل بود بر HLA-DQA1\*0301 (۷/۵٪،  $p=0.002$ ) Vs. (۲۱/۴۷٪)، HLA-DQB1\*0302 ( $p<0.05$ ) Vs. (۱۱/۲٪)، HLA-DQB1\*0603 (۰٪ Vs. ۳٪،  $p=0.05$ ) و HLA-DRB1\*0401 (۱۵/۳٪ Vs. ۷/۵٪،  $p=0.05$ ) در همین گروه (۱) الل‌هایی که کمترین فراوانی را در مقایسه با گروه کنترل داشتند شامل بود بر HLA-DQA1\*0505 ( $p=0.004$ ) Vs. (۲۳/۱٪) Vs. (۹/۱۸٪)، HLA-DQB1\*0602 ( $p=0.03$ ) Vs. (۱۲/۵٪ Vs. ۴/۰۸٪) و HLA-DRB1\*0101 (۸/۱٪ Vs. ۲/۰۴٪). در گروه ۲ (بالای ۴۰ سال) در منطقه ژنی DR و DQ الل‌هایی که بیشترین فراوانی را در مقایسه با گروه کنترل داشتند شامل بود بر HLA-DQA1\*0301 (۷/۵٪ Vs. ۲۱/۶٪،  $p=0.001$ ) Vs. (۷/۵٪ Vs. ۱۳/۰۲٪،  $p=0.02$ ) HLA-DRB1\*0301 (۳/۰۹٪) و HLA-DRB1\*0301 ( $p<0.05$ ) Vs. (۱۵/۶٪) و الل‌هایی که در بیماران این گروه (۲) کمترین فراوانی را در مقایسه با گروه کنترل داشتند شامل بود بر HLA-DRB1\*1301 (۷/۵٪ Vs. ۰٪) Vs. (۸/۱٪ Vs. ۰٪،  $p=0.02$ ) HLA-DQA1\*0101 و HLA-DQA1\*0505 (۱۲/۷٪ Vs. ۲۳/۱٪،  $p<0.05$ ).

رسیدند که ال HLA-DRB1\*۱۱ با فراوانی خیلی بیشتری در گروه کنترل دیده می‌شود ولی در گروه بیماران دیده نمی‌شود. لذا نتیجه‌گیری نهایی آن‌ها این بود که ال‌های HLA-DQB\*۰۳۰۳۲ و HLA-DRB1\*۱۱ نقش محافظت در برابر ابتلا به تومور پستان دارد.<sup>۲۰</sup> در مطالعه حاضر ال‌های فوق مورد جستجو قرار نگرفت، ولی ال‌های دیگری از قبیل HLA-DQB1\*۰۲۰۱، HLA-DQB1\*۰۳۰۱، HLA-DQB1\*۰۳۰۲، HLA-DQB1\*۰۵۰۱، HLA-DQB1\*۰۵۰۲، HLA-DQB1\*۰۶۰۱، HLA-DQB1\*۰۶۰۳، HLA-DQB1\*۰۶۰۴ مورد مطالعه قرار گرفت که میزان فراوانی هر یک از این ال‌ها، هم در مطالعه حاضر و هم در مطالعه Chaudhuri، تفاوت معنی‌داری بین گروه بیماران و گروه کنترل مشاهده نشده است. همین‌طور Lavado با مطالعه‌ای که بر روی ۱۳۲ زن مبتلا به تومور پستان و ۳۸۲ فرد سالم به‌عنوان گروه کنترل در یکی از مراکز تشخیص و درمان سرطان پستان در یکی از شهرهای کشور اسپانیا انجام داد، ال‌های HLA class II آن‌ها را مقایسه نمود و نتیجه‌گیری نمود که فراوانی ال HLA-B7 به‌طور معنی‌داری ( $p=۰/۰۰۱۹$ ) در مبتلایان به تومور پستان در B7 در مبتلایان به تومور پستان با پیشرفت تومور در منطقه جغرافیایی مورد مطالعه‌شان نسبت مستقیم دارد.<sup>۲۱</sup> در مجموع نتایج این مطالعه نشان داد که فراوانی ال HLA-DQA1\*۰۳۰۱ در هر دو گروه بیماران زیر ۴۰ سال و بالای ۴۰ سال به‌طور معنی‌داری بیشتر از گروه افراد سالم می‌باشد، در حالی‌که ال‌هایی نظیر HLA-DQB1\*۰۳۰۲ و HLA-DRB1\*۰۴۰۱ فقط در گروه بیماران زیر ۴۰ سال با فراوانی بالاتری مشاهده می‌گردند. همین‌طور نتایج این مطالعه نشان داد که ال‌های HLA-DQA1\*۰۵۰۵ و HLA-DQA1\*۰۱۰۱ در هر دو گروه زیر ۴۰ سال و بالای ۴۰ سال با فراوانی کمتری نسبت به گروه افراد سالم مشاهده می‌گردد. نتایج به‌دست آمده احتمالاً حاکی از مرتبط بودن فراوانی بعضی از ال‌های HLA class II در استعداد افراد به ابتلا به سرطان پستان و یا مقاومت در برابر این بیماری می‌باشد. این نتایج همین‌طور نشان می‌دهد که چگونگی اثر وراثت در ابتلا به بیماری در سنین جوانی و در افراد با سنین بالا فرق می‌نماید.

سپاسگزاری: نویسندگان مقاله از معاونت پژوهشی دانشگاه علوم پزشکی تهران که پشتیبان این طرح تحقیقاتی به شماره ۴۷۸۵ بود، قدردانی می‌نمایند.

ارزشمند است. در مطالعه حاضر فراوانی ال‌های مختلف در جایگاه‌های ژنی DQA1، DQB1، DRB1 در دو گروه از زنان بیمار از مراجعین به انستیتو کانسر شامل گروه‌های سنی زیر و بالای ۴۰ سال، مبتلا به کانسر پستان در مقایسه با گروه کنترل (متشکل از افراد سالم) بررسی گردید. نتایج نشان داد که فراوانی ال HLA-DQA1\*۰۳۰۱ در هر دو گروه بیماران زیر و یا بالای ۴۰ سال به‌طور معنی‌داری ( $p<۰/۰۰۱$ ) بیشتر از گروه افراد سالم می‌باشد، در حالی‌که ال‌هایی نظیر HLA-DQB1\*۰۳۰۲ و HLA-DQB1\*۰۶۰۳ فقط در گروه بیماران زیر ۴۰ سال با فراوانی بالاتری مشاهده می‌گردند و در گروه بالای ۴۰ سال ال‌های نظیر HLA-DRB1\*۱۳۰۳ و HLA-DRB1\*۰۳۰۱ با فراوانی بالایی مشاهده می‌گردند. این نتایج احتمالاً بیان‌کننده این نظریه است که در جمعیت تهران، وجود ال HLA-DQA1\*۰۳۰۱ می‌تواند از عوامل مستعدکننده فرد در ابتلا به سرطان پستان در هر سنی باشد و از طرفی در صورت ارتباط داشتن وجود ال‌های خاص با بروز سرطان پستان، نوع ال‌های دخیل در مرحله زودرس بیماری در مقایسه با سنین بالا فرق خواهد نمود. نتایج این مطالعه نشان داد که ال‌های HLA-DQA1\*۰۵۰۵ ( $p=۰/۰۰۴$ ) در گروه زیر ۴۰ سال و HLA-DQA1\*۰۱۰۱ ( $p=۰/۰۰۲$ ) در هر دو گروه زیر ۴۰ سال و بالای ۴۰ سال با فراوانی کمتری نسبت به گروه افراد سالم مشاهده می‌گردد و این یافته بیان‌کننده آن است که وجود این ال‌ها در افراد سالم می‌تواند با محافظت احتمالی آن‌ها در برابر ابتلا به سرطان پستان رابطه مستقیمی داشته باشد. در این زمینه کمتر مطالعه‌ای صورت گرفته، Baccar Harrath در مطالعه‌ای که بر روی زنان مبتلا به کانسر پستان انجام داده بدین نتیجه رسید که بین ال‌های HLA-DQB1\*۰۲-DQB1\*۰۷ و DRB1\*۰۷ میزان شیوع کانسر پستان رابطه منفی وجود دارد و ال‌های فوق با فراوانی بالاتری در گروه کنترل مشاهده می‌شود.<sup>۱۹</sup> لذا نتیجه گرفت که این ال‌ها و هاپلوتیپ آنها می‌تواند سبب محافظت در مقابل کانسر پستان گردد. همچنین Chaudhuri در یکی از شهرهای آمریکا با مطالعه‌ای که بر روی ۱۷۶ زن جوان زیر سنین ۴۰ سال مبتلا به کانسر پستان و ۲۱۵ زن سالم به‌عنوان گروه کنترل انجام داد، فراوانی ال‌های HLA-DRB1، DRB3، -DQB1، -DPB1 را بررسی نمود. ایشان به این نتیجه رسید که ال HLA-DQB\*۰۳۰۳۲ در هفت درصد افراد گروه کنترل مشاهده می‌گردد ولی در افراد جوان مبتلا به کانسر پستان مشاهده نمی‌گردد. آن‌ها همین‌طور به این نتیجه

## References

- Garfinkel L, Boring CC, Heath CW Jr. Changing trends. An overview of breast cancer incidence and mortality. *Cancer* 1994;74(1 Suppl):222-7.
- de Jong MM, Nolte IM, te Meerman GJ, van der Graaf WT, Oosterwijk JC, Kleibeuker JH, Schaapveld M, de Vries EG. Genes other than BRCA1 and BRCA2 involved in breast cancer susceptibility. *J Med Genet* 2002;39(4):225-42.
- Rebbeck TR. Inherited genetic predisposition in breast cancer. A population-based perspective. *Cancer* 1999;86(11 Suppl):2493-501.
- Kaufman JF, Auffray C, Korman AJ, Shackelford DA, Strominger J. The class II molecules of the human and murine major histocompatibility complex. *Cell* 1984;36(1):1-13.
- Sette A, Buus S, Colon S, Smith JA, Miles C, Grey HM. Structural characteristics of an antigen required for its interaction with Ia and recognition by T cells. *Nature* 1987;328(6129):395-9.
- Rock KL, Goldberg AL. Degradation of cell proteins and the generation of MHC class I-presented peptides. *Annu Rev Immunol* 1999;17:739-79.
- Chapman HA. Endosomal proteolysis and MHC class II function. *Curr Opin Immunol* 1998;10(1):93-102.
- Brinton L, Lacey J, Devesa SS. Epidemiology of breast cancer. In: Donegan WL, Spratt JS, editors. *Cancer of the Breast*. 5<sup>th</sup> ed. Philadelphia, PA: WB Saunders; 2002. p. 111-32.
- Dao DD, Sierra-Torres CH, Robazetti SC, de Gomez MN, König R, Lema C, et al. HLA-DQB1 and cervical cancer in Venezuelan women. *Gynecol Oncol* 2005;96(2):349-54.
- Porto T, Coelho I, Boavida J, Pereira C, Nunes JM, Mendonça D, et al. Association of HLA DQ4-DR8 haplotype with papillary thyroid carcinomas. *Clin Endocrinol (Oxf)* 2006;64(2):179-83.
- Wu MS, Hsieh RP, Huang SP, Chang YT, Lin MT, Chang MC, et al. Association of HLA-DQB1\*0301 and HLA-DQB1\*0602 with different subtypes of gastric cancer in Taiwan. *Jpn J Cancer Res* 2002;93(4):404-10.
- Monos DS, Pappas J, Magira EE, Gaughan J, Aplenc R, Sakkas L, et al. Identification of HLA-DQalpha and -DRbeta residues associated with susceptibility and protection to epithelial ovarian cancer. *Hum Immunol* 2005;66(5):554-62.
- Li PK, Poon AS, Tsao SY, Ho S, Tam JS, So AK, et al. No association between HLA-DQ and -DR genotypes with nasopharyngeal carcinoma in southern Chinese. *Cancer Genet Cytogenet* 1995;81(1):42-5.
- Graham DE. The isolation of high molecular weight DNA from whole organisms or large tissue masses. *Anal Biochem* 1978;85(2):609-13.
- Miller SA, Dykes DD, Polesky HF. A simple salting out procedure for extracting DNA from human nucleated cells. *Nucleic Acids Res* 1988;16(3):1215.
- Olerup O, Zetterquist H. HLA-DRB1\*01 subtyping by allele-specific PCR amplification: a sensitive, specific and rapid technique. *Tissue Antigens* 1991;37(5):197-204.
- Castro FA, Haimila K, Sareneva I, Schmitt M, Lorenzo J, Kunkel N, et al. Association of HLA-DRB1, interleukin-6 and cyclin D1 polymorphisms with cervical cancer in the Swedish population: a candidate gene approach. *Int J Cancer* 2009;125(8):1851-8.
- Hosono S, Kawase T, Matsuo K, Watanabe M, Kajiyama H, Hirose K, et al. HLA-A alleles and the risk of cervical squamous cell carcinoma in Japanese women. *J Epidemiol* 2010;20(4):295-301.
- Baccar Harrath A, Yacoubi Loueslati B, Troudi W, Hmida S, Sedkaoui S, Dridi A, et al. HLA class II polymorphism: protective or risk factors to breast cancer in Tunisia? *Pathol Oncol Res* 2006;12(2):79-81.
- Chaudhuri S, Cariappa A, Tang M, Bell D, Haber DA, Isselbacher KJ, et al. Genetic susceptibility to breast cancer: HLA DQB\*03032 and HLA DRB1\*11 may represent protective alleles. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2000;97(21):11451-4.
- Lavado R, Benavides M, Villar E, Ales I, Alonso A, Caballero A. The HLA-B7 allele confers susceptibility to breast cancer in Spanish women. *Immunol Lett* 2005;101(2):223-5.

## Association study between HLA-DRB, HLA-DQA1, HLA-DQB1 and breast cancer in Iranian women

Received: September 07, 2010 Accepted: October 11, 2010

### Abstract

Ali Akbar Amirzargar PhD.<sup>2</sup>  
Majid Mahmoodi PhD.<sup>1\*</sup>  
Hedayat Nahvi MD.<sup>1</sup>  
Amir Kasaian PhD.<sup>1</sup>  
Zahra Safari MSc.<sup>1</sup>  
Mahdi Mahmoudi PhD.  
Student.<sup>2</sup>  
Yadolla Shekiba PhD. Student.<sup>2</sup>  
Kouros Divsalar MSc.<sup>3</sup>  
Abbas Jafari MSc.<sup>1</sup>  
Bitā Ansarpour MSc.<sup>2</sup>  
Batool Moradi BS.<sup>2</sup>  
Mohammad-Ali Mohagheghi  
MD.<sup>1</sup>

1- Cancer Research Center, Cancer Institute, Tehran University of Medical Sciences, Tehran, Iran.

2- Department of Molecular Immunology Research Center, Tehran University of Medical Sciences, Tehran, Iran.

3- Neuroscience Research Center, Kerman University of Medical Sciences, Kerman, Iran.

**Background:** Based on the reports, high frequency of special alleles of HLA class II genes might be associated with susceptibility to or protective from a particular cancer. These alleles might vary depending on the geographical region. Here we investigate the association between alleles of HLA class II genes and breast cancer in Iranian women.

**Methods:** 100 patients with pathologically proved breast cancer who referred to Cancer Institute, Tehran University of Medical Sciences in Tehran, Iran, were divided to two groups based on ages (40 years old and less/ or more than 40 years old) and were randomly selected and compared with a group of 80 healthy blood donor subjects. HLA class II alleles were determined by amplification of DNA with polymerase chain reaction (PCR) method followed by HLA-typing using sequence-specific primer (SSP) for each allele.

**Results:** The most frequent alleles in the DR and DQ regions in group 1 (40 years old and less) in comparison with control group were HLA-DQA1\*0301 ( $p=0.002$ ) and HLA-DQB1\*0302 ( $p<0.05$ ). In contrast HLA-DQA1\*0505 ( $p=0.004$ ) had significantly lower frequency in this group compared with control group. Patients of group two (more than 40 years old) had a higher frequencies of HLA-DQA1\*0301 ( $p=0.001$ ) and HLA-DRB1\*1303 ( $p=0.02$ ) and a lower frequency of HLA-DQA1\*0101 ( $p=0.002$ ) compared to healthy control.

**Conclusion:** These findings provide information of a positive and negative association between certain alleles of HLA class II and breast cancer in our population and also might support that the pattern of inheritance in the early and late onset of breast cancer differ substantially.

**Keywords:** Breast cancer, allele, frequency, HLA.

\*Corresponding author: Cancer Research Center, Cancer Institute, Imam Khomeini Hospital, Keshavarz Blvd, 14197. Tehran, Iran.  
Tel: +98-21- 61192501  
email: dmahmoodi@razi.tums.ac.ir