بیان ژن *KLK2* در سرطان پروستات

سجاد شفاعی[۱]، الهام مسلمی[۲*]
مهدی محمدی[۳]، کسری اصفهانی[٤]
امیر ایزدی[٥]

۱- گروه زیست‌شناسی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد دامغان، دامغان، ایران.
۲- گروه زیست‌شناسی، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد تهران شرق، تهران، ایران.
۳- گروه مهندسی زیست فرآیند، پژوهشکده صنعت و محیط زیست، پژوهشگاه ملی مهندسی ژنتیک و زیست فناوری، تهران، ایران.
٤- گروه زیست فرآورده‌های گیاهی، پژوهشکده بیوتکنولوژی کشاورزی، پژوهشگاه ملی مهندسی ژنتیک و زیست فناوری، تهران، ایران.
٥- باشگاه پژوهشگران جوان و نخبگان، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد تهران شرق، تهران، ایران.

*نویسنده مسئول: تهران، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد تهران شرق، گروه زیست‌شناسی.
تلفن: ۸۸۱۹٤۰٦۱ -۰۲۱
E-mail: elham_moslemi60@yahoo.com

چکیده

دریافت: ۱۳۹٦/۰٦/۰۹ ویرایش: ۱۳۹٦/۱۰/۰۸ پذیرش: ۱۳۹٦/۱۰/۱٤ آنلاین: ۱۳۹٦/۱۰/۱٥

زمینه و هدف: سرطان پروستات یکی از شایعترین سرطان‌هایی است که مردان را مبتلا می‌کند. گرچه سرطان پروستات در اغلب موارد مرگبار نیست، شناخت عوامل موثر در تشخیص و درمان به‌موقع آن اهمیت دارد. افزایش بیان *KLK2* در سرطان پروستات رخ می‌دهد و در نتیجه می‌تواند به‌عنوان یک بیومارکر برای سرطان پروستات عمل کند. هدف از این مطالعه بررسی میزان بیان ژن *KLK2* به‌عنوان فاکتور احتمالی دخیل در تشخیص سرطان پروستات بود.

روش بررسی: در این مطالعه موردی، تعداد ۵۰ نمونه ادرار افراد مبتلا به سرطان پروستات و ۵۰ نمونه ادرار افراد سالم، مراجعه‌کننده به بیمارستان مهر تهران (دی ۱۳۹۳ تا اسفند ۱۳۹٤)، در بازه سنی ٤٦ تا ۷۱ سال جمع‌آوری گردید. سپس RNA نمونه‌ها استخراج و سنتز cDNA به کمک آنزیم MMuLV و پرایمرهای Oligo dt و Random hexamer انجام شد.

یافته‌ها: میانگین افزایش بیان ژن *KLK2* در افراد کمتر از ۵۰ سال و در افراد بیشتر از ۵۰ سال به‌ترتیب برابر با ۲/۳۲ و ۵/۷۹، P<۰/۰۰۰۱ بود. در بررسی بیماران با گروه‌بندی مرحله بیماری گروه GS6 با کمترین میزان بیان ۳/٤۰ برابر و در گروه GS8 با بیشترین میزان بیان ۱۰/۷٤ برابر نسبت به نمونه‌های نرمال افزایش بیان (P<۰/۰۰۰۱) مشاهده شد.

نتیجه‌گیری: بیان ژن *KLK2* در افراد مبتلا به سرطان پروستات بیشتر از افراد سالم است. در نهایت با توجه به نتایج می‌توان بیان نمود که ژن *KLK2* می‌تواند به‌عنوان یک عامل موثر و دخیل در سرطان پروستات مطرح شود که افزایش بیان آن با پیشرفت و توسعه بیماری در ارتباط است.

کلمات کلیدی: بیان ژن، *KLK2*، سرطان پروستات، واکنش زنجیری پلیمراز در زمان واقعی.

مقدمه

سرطان پروستات یکی از شایعترین سرطان‌هایی است که مردان را مبتلا می‌کند.[٤-۱] گرچه سرطان پروستات در اغلب موارد مرگبار نیست، شناخت عوامل خطرساز برای این بیماری برای تشخیص علایم سرطان پروستات و درمان زودرس آن اهمیت دارد.[٦و٥] سرطان پروستات یک نگرانی عمده برای سلامت مردان است.[۷] این بیماری پیش از سن ۵۰ سالگی نادر است و کارشناسان بر این باورند که اکثر مردانی که بالای ۵۰ سال دارند به آن مبتلا می‌شوند.[۸]

مردان سیاه پوست با احتمال بالاتری در معرض خطر ابتلا به این بیماری قرار دارند و نرخ مرگ‌ومیر آن‌ها بیشتر است. در سایر نقاط دنیا مانند: آسیا، افریقا و امریکای جنوبی شیوع سرطان پروستات کمتر است.[۹] سرطان پروستات به‌صورت معمول رشد کندی دارد و تا مرحله پیشرفته علایم قابل شهودی ندارد. اکثر مردان مبتلا به سرطان

[Downloaded from tumj.tums.ac.ir on 2026-06-11]

پروستات از عوامل دیگری غیر از خود سرطان جان خود را از دست می‌دهند. به‌محض آنکه سرطان پروستات به مرحله رشد سریع می‌رسد و به خارج از پروستات گسترش می‌یابد، خطرناک می‌شود.[۱۰و۱۱]

پزشکان عامل اصلی ابتلا به سرطان پروستات را نمی‌دانند ولی به نظر می‌رسد تغذیه تاثیر مهمی دارد. مردانی که میزان چربی دریافتی آن‌ها توسط گوشت قرمز بالاست در معرض خطر ابتلا به سرطان پروستات قرار دارند و هورمون‌ها نیز نقش مهمی در ابتلا به این سرطان دارند.[۱۲] خوردن چربی میزان هورمون تستوسترون در بدن را افزایش می‌دهد و تستوسترون سرعت رشد سرطان پروستات را افزایش می‌دهد.[۱۳] سابقه ارثی سرطان پروستات نیز عامل مهمی در ابتلا به این سرطان است.[۱٤-۱۰]

با توجه به شیوع بالای سرطان پروستات در جهان، بسیاری از مراکز پزشکی انجام آزمایش آنتی‌ژن اختصاصی پروستات به‌منظور غربالگری زودرس سرطان پروستات را توصیه کرده‌اند.[۱۵] پژوهش‌ها نشان داده است که افزایش بیان *KLK2* در طول ایجاد سرطان پروستات رخ می‌دهد و در نتیجه می‌تواند به‌عنوان یک بیومارکر برای سرطان پروستات عمل کند.[۱۹-۱٦]

اکثر سرطان‌های پروستات با آزمایش PSA ادرار و یا آزمایش مقعدی تشخیص داده می‌شوند. معمولاً سرطان در مراحل اولیه علایمی ندارد ولی با پیشرفت آن فرد علایمی را نشان می‌دهد، به هر صورت تشخیص قطعی با بیوپسی پروستات امکان‌پذیر است.[۲۲-۲۰]

خانواده‌ی ژن *KLK2* در طیف وسیعی از برنامه‌های فیزیولوژیکی انسان، از جمله تنظیم فشار ادرار، لخته‌ی مایع منی، بازسازی بافت، هورمون پپتید و غیره دخیل هستند.[۲۵-۲۳]

پروتیین Kallikrein-related peptidase 2 (KLK2) که پیش‌تر به نام hK2 نیز شناخته می‌شد، یک سرین پروتئاز ترشحی می‌باشد که از خانواده ژنی PSA می‌باشد. نتایج تحقیقات نشان داده است که استفاده از *KLK2* به همراه PSA می‌تواند بیومارکر مناسبی برای تشخیص سرطان پروستات باشد. در مردان با مقدار PSA کمتر از ۱۰ µg/l از ادرار، در صورت وجود مقادیر بالای *KLK2*، ریسک ابتلا به سرطان پروستات بالا می‌باشد.[۲٦] هدف از این مطالعه بررسی میزان بیان نسبی ژن *KLK2* به‌عنوان فاکتور احتمالی دخیل در تشخیص سرطان پروستات بود.

روش بررسی

در این مطالعه موردی، ۵۰ نمونه ادرار از افراد دارای سرطان پروستات پس از بررسی توسط متخصص پاتولوژی و رعایت فاکتورهای یکسان و ۵۰ نمونه از افراد سالم جمع‌آوری شد (جدول ۱). نمونه‌های از سال ۱۳۹۲ تا ۱۳۹۳ جمع‌آوری شد و افراد انتخاب شده از نظر سنی در طیف ۷۱-٤٦ ساله قرار داشتند. نمونه‌ها پس از جمع‌آوری به آزمایشگاه انتقال داده و مراحل استخراج بلافاصله بر روی آن‌ها انجام شد. همچنین نمونه‌ها برای نگهداری در زمان طولانی‌تر در فریزر $-20\ ^{\circ}C$ قرار داده شدند. استخراج RNA از ۱۰۰ µl ادرار با روش RNX-Plus صورت گرفت.[۲۷] خلوص و غلظت RNA استخراج شده توسط NanoDrop 2000c Spectrophotometer (NanoDrop Technologies, Wilmington, DE, USA) بررسی شد و طول موج ۲٦۰ به ۲۸۰ برای تمام نمونه‌ها بین ۱/۹-۱/۷ بود.

مواد لازم برای سنتز cDNA، Random Hexamer (40µM) به حجم ۱ µl، Oligo (dT) (100 µM) به حجم ۱ µl و dNTP(10mM) نیز به حجم ۱ µl با هم مخلوط شد. ۱۰ µl RNA به هر لوله افزوده و پنج دقیقه در $65\ ^{\circ}C$ قرار داده شد. سپس بلافاصله در یخ گذاشته شد. پس از یک تا دو دقیقه مخلوط واکنش با مقادیرNuclease free water به حجم ٤/۵ µl، M-MuLV 10X buffer به حجم ۲ µl، M-MuLV(200U/µl) به حجم ۰/۵ میکرولیتر (100 Unit) تهیه و به هر لوله به مقدار ۷ µl از این مخلوط اضافه گردید به‌طوری که حجم نهایی واکنش در نهایت ۲۰ µl شد. واکنش به مدت ٦۰ دقیقه در ٤۲ درجه قرار داده شد.

پرایمرها با استفاده از Primer Express software, version 3.0 (Applied Biosystems, Foster City, CA, USA) و به‌صورت exon-exon junction طراحی شدند. همچنین به منظور بررسی عدم اتصال غیراختصاصی پرایمرهای طراحی شده، از NCBI Primer-Blast Tool (http://www.ncbi.nlm.nih.gov/tools/primer-blast/) استفاده گردید. طول قطعه تکثیری بین ۵۰ تا ۱۱۰ جفت باز در نظر گرفته شد و درصد GC پرایمرها بین ۵۰ تا ۵۵٪ بود. توالی پرایمرهای طراحی شده در جدول ۲ نشان داده شده است. تکثیر ژن‌های *KLK2* و GAPDH برای اندازه‌گیری بیان ژن توسط واکنش Real time PCR صورت گرفت و تعیین کمیت نسبی در آن به‌وسیله اندازه‌گیری

[Downloaded from tumj.tums.ac.ir on 2026-06-11]

جدول ۱: اختصاری از اطلاعات بیماران مورد مطالعه

گروه‌بندی بیماران	سن		Gleason grading system (GS)			هورمون درمانی		شیمی‌درمانی		رادیوتراپی	
تعداد بیماران	≥۵۰	<۵۰	٦	۷	۸	بله	خیر	بله	خیر	بله	خیر
	۳٦	۱٤	۱۵	۱۵	۲۰	۵۰	۰	۵۰	۰	۵۰	۰

جدول ۲: توالی پرایمرهای ژن *KLK2* و *GAPDH* برای تکنیک Real time PCR

نام پرایمر	توالی	وزن مولکولی
***KLK2* real F**	TCAAGGGTGAGCCCTTTACT	100 bp
***KLK2* real R**	ATCCTCTCCCTTTCCCTCAT	
***GAPDH* F**	ATGGAGAAGGCTGGGGCT	
***GAPDH* R**	ATCTTGAGGCTGTTGTCATACTTCTC	۲۸۱۲۴ bp

جدول ۳: مواد استفاده شده در واکنش Real time PCR

واکنشگر	حجم (µl)
SYBR TM(2X) Master Mix	۱۰
Forward Primer (10 µM)	۰/۵
Reverse Primer (10 µM)	۰/۵
RT reaction solution (cDNA)	۲
ddH2O (satirized double distilled water)	۷

افزایش نور فلورسنس در نتیجه اتصال رنگ سایبرگرین با استفاده از دستگاه ABI 7500 Real-time PCR system (Applied Biosystems Inc., Foster City, CA, USA) صورت گرفت. اجزای واکنش Real time PCR در حجم نهایی µl ۲۰ و غلظت نهایی مواد در جدول ۳ نشان داده شده است.

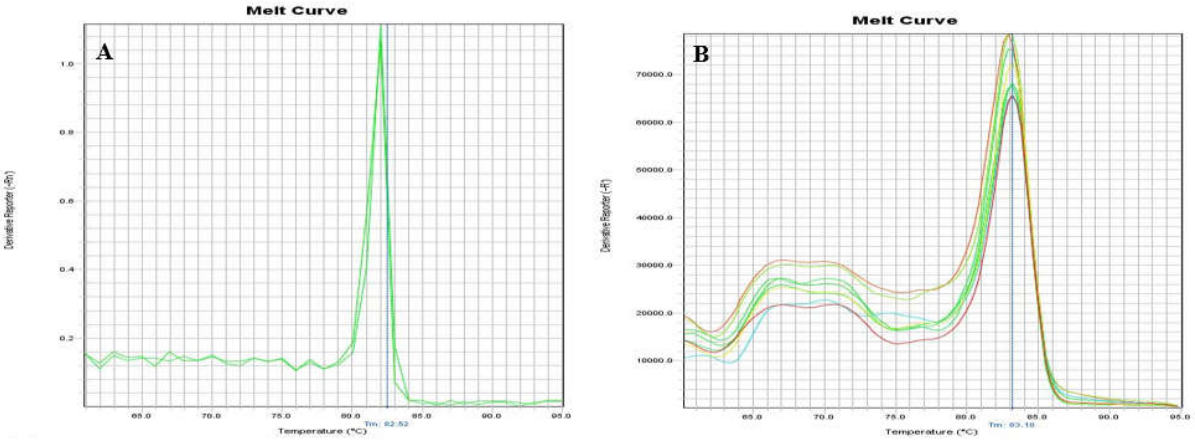
برنامه واکنش به‌صورت دناتوراسیون در دمای $^{\circ}C$ ۹۵ به مدت سه دقیقه به‌دنبال آن ٤۵ سیکل، به‌صورت دناتوراسیون در دمای $^{\circ}C$ ۹۵ به‌مدت پنج ثانیه و اتصال در دمای $^{\circ}C$ ٦۰ به‌مدت ۳۰ ثانیه، انجام شد.

یافته‌ها

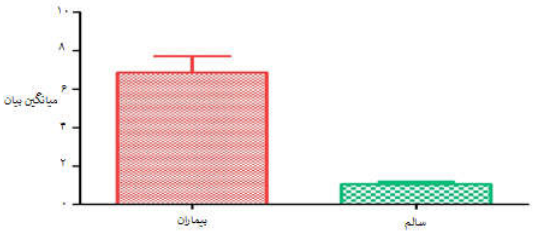
با توجه به این نکته که از رنگ فلورسانت سایبرگرین استفاده شده است، در این پژوهش به‌منظور بررسی اختصاصیت پرایمرها و رنگ فلورسانس سایبرگرین و اطمینان از تکثیر قطعات اختصاصی و بررسی عدم وجود قطعات غیراختصاصی در محصول PCR، نمودار منحنی ذوب برای ژن *KLK2* و GAPDH (نمودار ۱) به‌صورت جداگانه توسط دستگاه Real time PCR رسم شد (نمودار ۱) و اتصال صحیح پرایمرها به ژن *KLK2* و اختصاصیت محصول PCR برای ژن مورد نظر تایید شد. پس از انجام واکنش تکثیر، ct نمونه‌ها توسط دستگاه محاسبه و بر اساس آن Relative Quantification (RQ) به‌دست آمد. اندازه‌گیری میزان بیان ژن با روش Ct انجام شد. میزان بیان نمونه‌های بیمار به صورت مقایسه‌ای با نمونه‌های نرمال بیان شد و نتایج به‌دست آمده نسبت به میزان بیان همان ژن در بافت نرمال می‌باشد. همانطور که نتایج نشان می‌دهد میزان بیان ژن *KLK2* در نمونه‌های بیمار نسبت به نمونه‌های سالم افزایش بیانی معادل ٦/۵۸ برابر نسبت به نمونه‌های نرمال (P<۰/۰۰۰۱) داشته و این افزایش بیان در تمام نمونه‌ها دیده شد. بنابراین سرطان پروستات در افزایش بیان ژن *KLK2* موثر بوده و این ژن می‌تواند نقش مهمی در شناسایی این سرطان ایفا کند (نمودار ۲). در بررسی سن و با تفکیک افراد به دو گروه بیشتر از ۵۰ سال و کمتر از ۵۰ سال مشخص شد که اختلاف معناداری بین این دو گروه وجود دارد و میانگین افزایش بیان ژن *KLK2* در افراد کمتر از ۵۰ سال برابر با ۲/۳۲ و در افراد بیشتر از ۵۰ سال برابر با ۵/۷۹ (P<۰/۰۰۰۱) بود (نمودار ۳–A).

همچنین افزایش بیان ژن *KLK2* ارتباط مستقیمی با Gleason grading System (GS) سرطان پروستات دارد به‌طوری که میزان بیان ژن *KLK2* در گروه GS6 ،۳/٤۰ GS7 ۷/۷٤ و در GS8 میانگین بیان ۱۰/۷٤، (P<۰/۰۰۰۱) برابر نمونه‌های نرمال افزایش بیان داشته‌اند. (نمودار ۳–B).

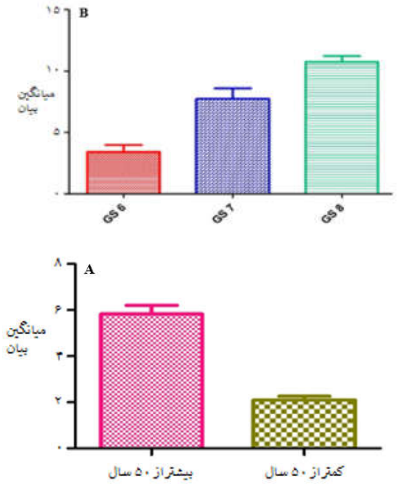
[Downloaded from tumj.tums.ac.ir on 2026-06-11]



نمودار ۱: نمودار منحنی ذوب ژن‌های *KLK2, GAPDH*. A: منحنی ذوب ژن *KLK2*، B: منحنی ذوب ژن *GAPDH*



نمودار ۲: بررسی میزان بیان ژن *KLK2* در گروه بیماران و نرمال افراد دارای سرطان پروستات



نمودار ۳: بررسی میانگین میزان بیان ژن *KLK2* در بیماران دارای سرطان پروستات. A: بر اساس گروه سنی، B: مرحله بیماری

بحث

در مطالعه حاضر با استفاده از تکنیک Real time PCR و بررسی مقدار رونوشت RNA ژن *KLK2*، ارتباط معناداری بین افراد دارای سرطان پروستات و افراد نرمال مشاهده شد و میزان ژن *KLK2* در مردان مبتلا به سرطان پروستات، به‌طور معناداری پایین‌تر از افراد نرمال بود. افراد دارای ویژگی‌های بالینی سرطان پروستات در مرحله پیشرفته بیماری قرار داشتند، برای شناسایی سرطان پروستات نیاز فوری به نشانگرهای پیش‌بینی کننده در مراحل ابتدایی بیمـاری وجود دارد، تا بتوان در فرایند تصمیم‌گیری درمان، تصمیم‌های دقیق و درستی را اتخاذ نمود. در مجموع ۱۴/۵٪ از تومورهایی که جراحی شده و یا بیمار برای آن شیمی‌درمانی و رادیوتراپی شده است

[Downloaded from tumj.tums.ac.ir on 2026-06-11]

خوش‌خیم بوده و نیاز به درمان متفاوتی داشته‌اند. مطالعه حاضر نشان داد که ژن *KLK2* می‌تواند یک شاخص پیش‌آگهی دهنده امیدوار کننده باشد.

Shang و همکاران با تجزیه و تحلیل بافت متوجه شدند که افزایش بیان ژن *KLK2* با سرعت تکثیر سلولی بالا و شاخص آپوپتوز پایین در نمونه‌ی سلول LNCaP ارتباط دارد.[۲۹] بررسی نقش بیان ژن *KLK2* در مطالعه‌ای که توسط Williams و همکارانش صورت گرفت بررسی شد. نتایج مطالعه آن‌ها نشان داد که افزایش میزان *KLK2* سبب فعال شدن و افزایش میزان PSA شده در سرم می‌شود به‌طوریکه در موش‌هایی ترنس ژن که دارای دو نسخه از این ژن می‌باشند، میزان فعالیت و مقدار PSA به شدت تحت تاثیر میزان *KLK2* افزایش می‌یابد.[۳۰] باوجود متفاوت بودن تکنیک‌های مورد استفاده در این مطالعه با مطالعه حاضر، نقش مهم *KLK2* در تشخیص سرطان در هر دو مطالعه تایید شده است.

در مطالعه‌ای که توسط Meola و همکارانش صورت گرفت سطوح mRNA مربوط به ژن‌های *KLK2* و *KLK3* به‌روش Multiplex RT-PCR نیمه کمی مورد بررسی قرار دادند. آن‌ها در این مطالعه از نمونه بافت افراد بیمار استفاده کرده و نتایج مطالعه آن‌ها نشان دادکه ژن *KLK2* در ۶۰٪ از نمونه‌ها افزایش بیان دارد. اگرچه تکنیک و نمونه مورد مطالعه آن‌ها با مطالعه حاضر متفاوت است اما نتایج هر دو مطالعه با هم همخوانی دارد.[۳۱]

در مطالعه‌ای که توسط Mengual و همکارانش صورت گرفت میزان بیان ژن *KLK2* در نمونه ادرار افراد مبتلا به سرطان پروستات به‌وسیله تکنیک Multiplex mRNA urine test مورد بررسی قرار گرفت. آن‌ها در این مطالعه به‌طور همزمان میزان بیان ژن‌های *KLK2* و *KLK3* را به‌روش qPCR مورد ارزیابی قرار دادند. نتایج مطالعه آن‌ها نشان داد که بررسی بیان ژن *KLK2* به‌همراه *PCA3* می‌تواند در تشخیص سرطان پروستات نقش داشته باشد.[۳۲] اگرچه آن‌ها در مطالعه خود میزان بیان همزمان چندین ژن را بررسی نمودند، اما روش مطالعه مورد بررسی با مطالعه حاضر همخوانی داشته و نتایج حاصل از هر دو مطالعه کاملا با هم تطابق داشتند. سرین پروتئاز *KLK2* دارای ۸۰٪ همولوژی با PSA بوده و نقش بسیار مهمی در برش pPSA و تبدیل آن به PSA فعال و بالغ برعهده دارد. مطالعات نشان می‌دهد میزان بیان *KLK2* برخلاف PSA در افراد مبتلا به سرطان پروستات و هایپرپلازی خوش‌خیم متفاوت بوده و می‌تواند نقش مهمی در تشخیص بیماری برعهده داشته باشد.[۳۳]

پیشنهاد می‌شود مطالعات بیشتر به خصوص مطالعات سیتولوژیک جهت بررسی مسیرهای بالا دستی و پایین دستی جهت تایید نقش میزان بیان این ژن در سرطان پروستات صورت گیرد. انجام آزمایش بر روی نمونه خون و در جامعه آماری بزرگ‌تر از بیماران مبتلا به سرطان پروستات سبب تعیین دقیق‌تر کارایی تست می‌گردد.

در نهایت نتایج نشان داد که ارتباط مستقیمی مابین افزایش سن بیمار و همچنین مراحل پیشرفت بیماری با میزان بیان ژن *KLK2* وجود دارد.

سپاسگزاری: این مقاله حاصل تحقیقات مشترک دانشگاه آزاد اسلامی واحد دامغان، دانشگاه آزاد اسلامی واحد تهران شرق و پژوهشگاه ملی مهندسی ژنتیک و زیست فناوری بوده است که بدینوسیله از حمایت‌های هر سه مرکز تشکر و قدردانی می‌گردد.

References

1. Wagle N, Van Allen E, Perrin D, Friedrich D, Fisher S, Kryukov G, et al. Abstract 3152: CanSeq: prospective clinical whole-exome sequencing of FFPE tumor samples. Cancer Res 2013:73(8 Suppl):3152.
2. Jemal A, Siegel R, Xu J, Ward E. Cancer statistics, 2010. *CA Cancer J Clin* 2010;60(5):277-300.
3. Bourdoumis A, Papatsoris AG, Chrisofos M, Efstathiou E, Skolarikos A, Deliveliotis C. The novel prostate cancer antigen 3 (*PCA3*) biomarker. *Int Braz J Urol* 2010;36(6):665-8; discussion 669.
4. Barry MJ, Fowler FJ Jr, O'leary MP, Bruskewitz RC, Holtgrewe HL, Mebust WK, et al; Measurement Committee of the American Urological Association. The American Urological Association Symptom Index for benign prostatic hyperplasia. *J Urol* 2017;197(2S):S189-S197.
5. Black MH, Magklara A, Obiezu C, Levesque MA, Sutherland DJ, Tindall DJ, et al. Expression of a prostate-associated protein, human glandular kallikrein (hK2), in breast tumours and in normal breast secretions. *Br J Cancer* 2000;82(2):361-7.
6. Madu CO, Lu Y. Novel diagnostic biomarkers for prostate cancer. *J Cancer* 2010;1:150-77.
7. Crawford ED. Understanding the epidemiology, natural history, and key pathways involved in prostate cancer. *Urology* 2009;73(5 Suppl):S4-10.

[Downloaded from tumj.tums.ac.ir on 2026-06-11]

8. Drabovich AP, Saraon P, Karakosta TD, Dimitromanolakis A, Diamandis EP, Hyndman EM, et al. Multi-omics biomarker pipeline reveals elevated levels of protein-glutamine gamma-glutamyltransferase 4 in seminal plasma of patients with prostate cancer. *bioRxiv* 2017:120873.
9. Ghasemi S, Tavakoli A, Moghadam M, Zargar MA, Abbaspour M, Hatamnejadian N, et al. Risk of prostate cancer and thrombosis-related factor polymorphisms. *Biomed Rep* 2014;2(1):53-56.
10. Jin G, Zheng SL, Lilja H, Kim ST, Tao S, Gao Z, et al. Genome-wide association study identifies loci at ATF7IP and *KLK2* associated with percentage of circulating free PSA. *Neoplasia* 2013;15(1):95-101.
11. Gurel B, Ali TZ, Montgomery EA, Begum S, Hicks J, Goggins M, et al. NKX3.1 as a marker of prostatic origin in metastatic tumors. *Am J Surg Pathol* 2010;34(8):1097-105.
12. Tayebi Niaraki M, Kavosi M, Moslemi E, Izadi A. HER3 gene expression study by RT-PCR in patient with breast cancer. *Iran J Breast Dis* 2016;9(2):60-5.
13. Hossein Yazdi A, Moslemi E, Mahmoudi Lamouki R, Taghavi A, Izadi A. Ubiquitin D gene expression in types of leukemia. *Res Med* 2017;41(1):45-9.
14. Alavijeh MG, Moslemi E, Izadi A. Study the expression of estrogen receptor alpha in women with breast cancer. *Bull Env Pharmacol Life Sci* 2014;3:60-3.
15. Hessels D, Schalken JA. The use of *PCA3* in the diagnosis of prostate cancer. *Nat Rev Urol* 2009;6(5):255-61.
16. Hessels D, van Gils MP, van Hooij O, Jannink SA, Witjes JA, Verhaegh GW, et al. Predictive value of *PCA3* in urinary sediments in determining clinico-pathological characteristics of prostate cancer. *Prostate* 2010;70(1):10-6.
17. Parikh H, Deng Z, Yeager M, Boland J, Matthews C, Jia J, et al. A comprehensive resequence analysis of the KLK15-KLK3-*KLK2* locus on chromosome 19q13.33. *Hum Genet* 2010;127(1):91-9.
18. Hong JH, Kim IY. Nonmetastatic castration-resistant prostate cancer. *Korean J Urol* 2014;55(3):153-60.
19. Klein RJ, Halldén C, Cronin AM, Ploner A, Wiklund F, Bjartell AS, et al. Blood biomarker levels to aid discovery of cancer-related single-nucleotide polymorphisms: kallikreins and prostate cancer. *Cancer Prev Res (Phila)* 2010;3(5):611-9.
20. Lee SH, Lee S. Genetic association study of a single nucleotide polymorphism of kallikrein-related peptidase 2 with male infertility. *Clin Exp Reprod Med* 2011;38(1):6-9.
21. Wang L, Zang W, Sang Y, Xie D, Wei L, Ji W, et al. Correction: association of polymorphism rs198977 in human kallikrein-2 gene (*KLK2*) with susceptibility of prostate cancer: a meta-analysis. *PLoS One* 2013;8(8):10.1371.
22. Marques PI, Bernardino R, Fernandes T, Green ED, Hurle B, Quesada V, et al; NISC Comparative Sequencing Program. Birth-and-death of KLK3 and *KLK2* in primates: evolution driven by reproductive biology. *Genome Biol Evol* 2012;4(12):1331-8.
23. Papatsoris AG, Kostopoulos C, Migdalis V, Chrisofos M. Prostate cancer precursor diseases. In: Srivastava S, editor. Intraepithelial Neoplasia. Croatia (European Union): InTech: 2012.
24. Satkunasivam R, Zhang W, Trachtenberg J, Toi A, Yu C, Diamandis E, et al. Human kallikrein-2 gene and protein expression predicts prostate cancer at repeat biopsy. *Springerplus* 2014;3:295.
25. Zheng SL, Sun J, Wiklund F, Smith S, Stattin P, Li G, et al. Cumulative association of five genetic variants with prostate cancer. *N Engl J Med* 2008;358(9):910-9.
26. Robbins RJ, Schlumberger MJ. The evolving role of (131)I for the treatment of differentiated thyroid carcinoma. *J Nucl Med* 2005;46 Suppl 1:28S-37S.
27. Izadi A, Moslemi E, Poorhosseini SM, Yassaee VR, Kheiri HR, Elikai HR. UBD identify in paraffin tissues in patients with colorectal cancer. *J Isfahan Med Sch* 2014;32(291):972-81.
28. Beheshtizadeh M, Moslemi E. Analysis of G3BP1 and VEZT expression in gastric cancer and their possible correlation with tumor clinicopathological factors. *J Gastric Cancer* 2017;17(1):43-51.
29. Shang Z, Niu Y, Cai Q, Chen J, Tian J, Yeh S, et al. Human kallikrein 2 (*KLK2*) promotes prostate cancer cell growth via function as a modulator to promote the ARA70-enhanced androgen receptor transactivation. *Tumour Biol* 2014;35(3):1881-90.
30. Williams SA, Xu Y, De Marzo AM, Isaacs JT, Denmeade SR. Prostate-specific antigen (PSA) is activated by *KLK2* in prostate cancer ex vivo models and in prostate-targeted PSA/*KLK2* double transgenic mice. *Prostate* 2010;70(7):788-96.
31. Meola J, Goulart LR, Oliveira JD, Neves AF, Oliveira Jr WP, Saraiva A, et al. Differential expression of the *KLK2* and KLK3 genes in peripheral blood and tissues of patients with prostate cancer. *Genet Mol Biol* 2006;29(2):193-9.
32. Mengual L, Lozano JJ, Ingelmo-Torres M, Izquierdo L, Musquera M, Ribal MJ, et al. Using gene expression from urine sediment to diagnose prostate cancer: development of a new multiplex mRNA urine test and validation of current biomarkers. *BMC Cancer* 2016;16(1):76.
33. Hong SK. Kallikreins as biomarkers for prostate cancer. *Biomed Res Int* 2014;2014:526341.

[Downloaded from tumj.tums.ac.ir on 2026-06-11]

TUMJ Tehran University Medical Journal, January 2018; Vol. 75, No. 10: 745-751 Original Article

Expression of *KLK2* gene in prostate cancer

Sajad Shafai M.Sc.[1]
Elham Moslemi Ph.D.[2*]
Mehdi Mohammadi Ph.D.[3]
Kasra Esfahani Ph.D.[4]
Amir Izadi Ph.D.[5]

1- Department of Biology, Islamic Azad University, Damghan Branch, Damghan, Iran.
2- Department of Biology, Islamic Azad University, East Tehran Branch, Tehran, Iran.
3- Department of Bioprocess Engineering, Institute of Industrial and Environmental Biotechnology, National Institute of Genetic Engineering and Biotechnology (NIGEB), Tehran, Iran.
4- Department of Plant Bioproducts, Institute of Agricultural Biotechnology, National Institute of Genetic Engineering and Biotechnology (NIGEB), Tehran, Iran.
5- Young Researcher and Elite Club, Islamic Azad University, East Tehran Branch, Tehran, Iran.

[*]Corresponding author: Department of Biology, Islamic Azad University, East Tehran Branch, Tehran, Iran.
Tel: +98- 21- 88194061
E-mail: elham_moslemi60@yahoo.com

Abstract

Received: 31 Aug. 2017 Revised: 29 Dec. 2017 Accepted: 04 Jan. 2018 Available online: 05 Jan. 2018

Background: Prostate cancer is one of the most common diseases that affect men. Although prostate cancer is not the fatal flaw in most cases, detection of effective factors for early diagnosis and treatment is essential. Research results have shown that the use of *KLK2* plus PSA can be a good biomarker for diagnosing prostate cancer. During prostate cancer, expression of *KLK2* gene increases which can be used as a prostate cancer biomarker. The aim of this study was an assessment of *KLK2* gene expression as a potential factor in the prostate cancer diagnosis.

Methods: In this case study, 50 prostate cancer urine samples from patients and 50 urine samples from normal individuals who were referred to Mehr Hospital of Tehran (from December 2014 to February 2016) were obtained and stored in the central research laboratory of Shahid Beheshti University of Medical Sciences, Tehran, till tests were being done. The age of collected samples between the 46 up to 71 years. RNA of samples were extracted, and then cDNA was synthesized by using M-MuLV enzyme, Oligo dt, and Random hexamer primers. *KLK2* specific primers designed by Primer Express software, version 3.0 (Applied Biosystems, Foster City, CA, USA), and *KLK2* gene expression evaluated by using ct methods.

Results: In comparison with patients and normal sample`s gene expression, the mean increase expression of *KLK2* gene in patients less than 50 years was 2.32 and in patients more than 50 years, it was 5.79, P<0.0001. In addition, gene expression results with respect to GS (Gleason grading system) classification shown that patients with GS6 had the lowest gene expression (3.40) and in the patients with GS8, had the highest gene expression (10.74) in comparison with normal group (P<0.0001).

Conclusion: The expression of *KLK2* gene in people with prostate cancer is the higher than the healthy person; finally, according to the results, it could be mentioned that the *KLK2* gene considered as a useful factor in prostate cancer, whose expression is associated with progression and development of the prostate cancer.

Keywords: gene expression, *KLK2*, prostate cancer, real-time polymerase chain reaction.

[Downloaded from tumj.tums.ac.ir on 2026-06-11]