



## بررسی پلی مورفیسم Fas-1377 G/A در سرطان پستان بیماران ایرانی

زهرا طهماسبی فرد<sup>۱\*</sup>، ماندانا حسن زاد<sup>۲</sup>، ناهید نفیسی<sup>۳</sup>

<sup>۱</sup> گروه سلولی و مولکولی، دانشکده علوم نوین، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد علوم پزشکی تهران، تهران، ایران

<sup>۲</sup> مرکز تحقیقات ژنومیک پزشکی، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد علوم پزشکی تهران، تهران، ایران

<sup>۳</sup> جراح انکوپلاستیک پستان، مرکز تحقیقات سرطان، علوم پزشکی دانشگاه شهید بهشتی، تهران، ایران

(دریافت مقاله: ۹۳/۶/۲۳ - پذیرش مقاله: ۹۳/۱۰/۲۸)

### چکیده

**زمینه:** آپاتوزیس، مرگ برنامه‌ریزی شده سلول است که برای تکامل و ترمیم بافت ضروریست. آپاتوزیس با اتصال Fas به Fas لیگاند تحریک می‌شود که نقش مهمی در تنظیم سیستم ایمنی دارد. اطلاعات متناقضی از ارتباط بین پلی مورفیسم ۱۳۷۷ و حساسیت به سرطان وجود دارد. این مطالعه به منظور بررسی ارتباط بین پلی مورفیسم 1377 A/G در ژن Fas و سرطان پستان در بیماران ایرانی انجام گرفته است.

**مواد و روش‌ها:** ۶۵ بیمار مبتلا به سرطان پستان و ۵۷ فرد کنترلی مورد بررسی قرار گرفتند. در این مطالعه از روش PCR-RFLP برای تعیین ژنوتایپ‌ها استفاده شد. تجزیه و تحلیل آماری به کمک نرم‌افزار SPSS ویرایش ۱۹، با آزمون جدول دویعدی X<sup>2</sup> با فاصله اطمینان ۹۹ درصد محاسبه شد.

**یافته‌ها:** نتایج نشان می‌داد که ژنوتایپ AG ۱/۵۳ درصد، GG ۲۷/۷ درصد، و AA ۷۰/۷۸ درصد در میان نمونه‌های سرطان پستان و ژنوتایپ‌های AG ۲۶/۳ درصد، GG ۱۷/۵ درصد، AA ۵۶/۱ درصد در میان افراد کنترلی شیوع دارد. همچنین بر اساس تعادل هاردی واینبرگ، فراوانی الل A در بیماران سرطانی ۷۱/۵ درصد و فراوانی G ۲۸/۵ درصد بود و در افراد کنترلی فراوانی A حدود ۶۹/۳ درصد و فراوانی G برابر با ۳۰/۷ درصد محاسبه شد. از نظر آماری نیز رابطه معنی‌دار بین دو گروه مشاهده شد ( $P > 0.01$ ).

**نتیجه‌گیری:** با توجه به یافته‌های این مطالعه پلی مورفیسم ۱۳۷۷ G/A ژن Fas با حساسیت ابتلا به سرطان پستان مرتبط بوده و می‌توان آن را به‌عنوان فاکتور مؤثری در کارسینوژنز سرطان پستان زنان در نظر گرفت.

**واژگان کلیدی:** Fas 1377 G/A، پلی مورفیسم، سرطان پستان، RFLP-PCR

\* تهران، خیابان شریعی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد علوم پزشکی تهران، دانشکده علوم نوین

## مقدمه

رونویسی است (۹). دو پلی مورفیسم در ارتباط با پروموتور Fas شناسایی شده است. یکی در منطقه خاموش کننده که منجر به جایگزینی باز A بجای G می شود و در نوکلئوتید ۲۱۳۷۷ (rs ۲۲۳۴۷۶۷) قرار دارد و دیگری در منطقه افزایش دهنده منجر به جایگزینی G بجای A در نوکلئوتید موقعیت ۲۶۷۰ (rs ۱۸۰۰۶۸۲) می گردد. هر دو پلی مورفیسم به ترتیب درون پروتئین محرک ۱ (stimulatory protein-1) و انتقال دهنده سیگنال و فعال کننده رونویسی STAT1 در محل های اتصال فاکتور رونویسی قرار گرفته اند. این تغییرات در توالی منطقه پروموتور ژن Fas می تواند روی بیان ژن Fas تأثیرگذار بوده و باعث عدم تنظیم مرگ برنامه ریزی شده سلول شود و در سرطان زایی نقش داشته باشد (۱۰).

در بررسی متاآنالیز انجام گرفته توسط جینگ زنگ (Jing Zeng) و همکاران، پنج مطالعه موردی شاهدی در مجموع ۵۹۹۵ نفر که شامل ۲۹۰۵ نفر فرد مبتلا به سرطان پستان و ۳۰۹۰ نفر در گروه شاهد بود، مطالعه انجام دادند. نتایج متا آنالیز آن ها نشان می داد که پلی مورفیسم A/G ۱۳۷۷ به احتمال زیاد با خطر ابتلا به سرطان پستان به خصوص آلل A در آسیایی ها ارتباط داشته باشد (۱۱). بر این اساس، در این تحقیق ما ارتباط پلی مورفیسم A/G ۱۳۷۷ را با سرطان پستان در بیماران ایرانی مورد ارزیابی قرار دادیم.

## مواد و روش ها

جمعیت مطالعه شده

در این مطالعه موردی - شاهدی، رضایت نامه کتبی از افراد مراجعه کننده به بیمارستان شهدای تجریش تحت نظارت کمیته اخلاق با کد اخلاقی ۱۰۳۹ اخذ شد و سپس نمونه گیری از افراد آغاز شد. از ۶۵ بیمار مبتلا

سرطان تنها بخاطر تکثیر نامحدود سلول ها، شکل نمی گیرد بلکه با جلوگیری از مرگ سلولی نیز مرتبط می باشد. آپاپتوز فرایند پیچیده ای است که سلول به طور منظم اقدام به خودکشی می کنند. این فرایند در هموستازی و عملکرد طبیعی موجودات چند سلولی بالغ نقش دارد. افزایش عملکرد آپاپتوزیس در طی تکامل منجر به سقط جنین و یا ناهنجاری می شود و در صورت نقص در القاء آپاپتوزیس، تکثیر DNA آسیب دیده منجر به گسترش تومور می شود (۱).

توانایی مقابله با محرک های آپاپتوزیس، یکی از ویژگی های سلول های بدخیم است. سلول های بدخیم در مسیر آپاپتوز تغییراتی ایجاد می کنند که اساس توسعه انواع بیماری های انسان از جمله سرطان را تشکیل می دهد (۲ و ۳).

Fas یا TNFRSF6/CD95/APO-1 گیرنده سطح سلولی است که در انواع مختلف بافت ها بیان می شود (۴). Fas Ligand یا TNFSF6/CD95L یکی از اعضای خانواده بزرگ فاکتور نکروزدهنده تومور است که با Fas میان کنش می دهد (۵) تا آبخار پیام رسانی مرگ سلولی را به راه بیان دازد و منجر به مرگ سلول بیان کننده Fas شود. مطالعات نشان داده که کاهش بیان Fas و یا افزایش بیان Fas Ligand با انواع بسیاری از تومورهای انسانی مرتبط می باشد (۶).

سیستم پیام رسانی Fas/ Fas Ligand یک مسیر مرگ خارج سلولی مهمی است که اهمیت خاصی برای تنظیم پاسخ سیستم ایمنی دارد (۷).

ژن Fas بر روی کروموزوم 10q24.1 قرار داشته و از ۹ اگزون تشکیل شده است (۸). طول ژن بیش از ۲۶ کیلو باز DNA بوده و ناحیه پروموتوری آن غنی از GC و دارای توالی های حفظ شده برای فاکتورهای

acid) مخلوط گردید. DNA موجود در سلول‌های هسته‌دار به کمک روش استاندارد استخراج گردید (۱۲) و همه نمونه‌ها در فریزر  $-20^{\circ}\text{C}$  قرار داده شد. با استفاده از پرایمرهای اختصاصی قطعه مورد نظر (که حاوی محل پلی‌مورفیسم بود) تکثیر شد و با آنزیم محدود کننده اختصاصی محل مورد نظر برش داده شد. (طبق مقالاتی که قبلاً کار شده بود (۱۶-۱۳). (جدول ۱).

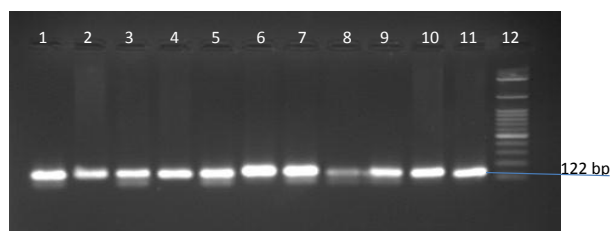
به سرطان پستان و ۵۷ فرد سالم که به هیچ بیماری خاصی مبتلا نبودند و در بستگان درجه اولشان نیز سرطان پستان وجود نداشت به‌عنوان گروه کنترل استفاده شدند. هر دو گروه از نظر سنی در یک طیف قرار داشتند.

### تعیین ژنوتایپ افراد

از تمامی نمونه‌ها حدود ۵ تا ۷ میلی‌لیتر خون گرفته شد و با EDTA (ethylenediaminetetraacetic )

جدول ۱) توالی پرایمر استفاده شده برای ژن Fas به همراه آنزیم شناسایی کننده پلی‌مورفیسم 1377 G/A

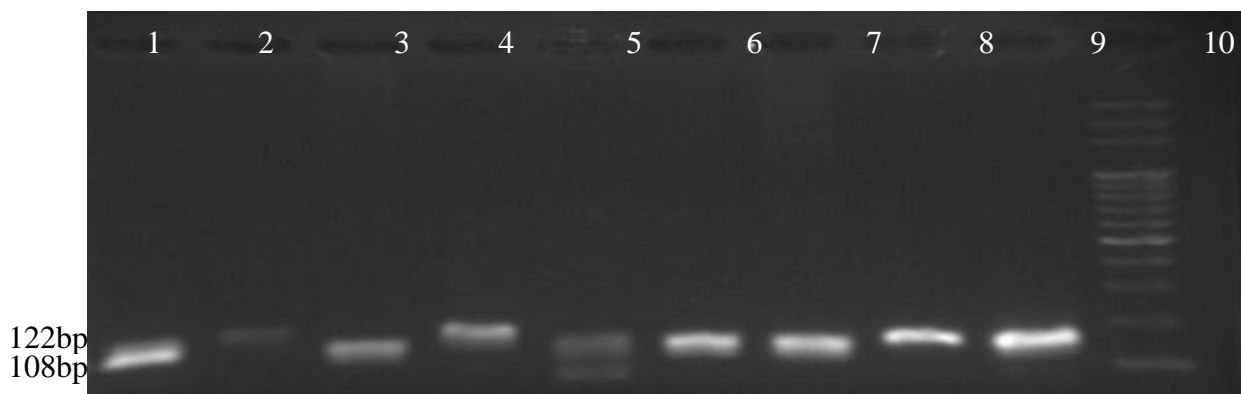
اندازه محصول PCR	آنزیم محدود کننده	Tm	توالی از سمت 5'→3'	پرایمر
۱۲۲bp	BstU I	۶۳°C	5'-TGTGTGCACAAGGCTGGCGC-3'	رفت
		۶۹°C	TGCATCTGCTACTGCACTTACCACCA-3'	برگشت



شکل ۱) نشاندهنده تکثیر نمونه‌های سرطانی و شاهد با Master mix تجاری چاهک‌های ۱ تا ۵ نمونه‌های سرطانی و چاهک‌های ۶ تا ۱۱ نمونه‌های شاهد، چاهک ۱۲ مارکر ۱۰۰bp

برای شناسایی پلی‌مورفیسم، ۱۰ میکرو لیتر از محصولات PCR با BstU I واحد از آنزیم محدود کننده BstU I مخلوط شدند تا در صورت وجود G در محل مورد نظر، دو قطعه به طول ۱۰۸ جفت باز و ۱۴ جفت باز به وجود آید که نشان دهنده ژنوتایپ GG می‌باشد. اگر در محل مورد نظر نوکلئوتید به A تغییر یافته باشد، آنزیم قادر به برش نخواهد بود و همان قطعه ۱۲۲bp بر روی ژل ظاهر می‌شود که نشان‌دهنده ژنوتایپ هموزیگوت AA است. در صورت هتروزیگوت بودن فرد، هر سه باند به طول‌های ۱۲۲، ۱۰۸ و ۱۴ جفت باز بر روی ژل مشاهده خواهد شد (شکل ۲).

واکنش زنجیره‌ای پلیمرز در حجم واکنش ۲۳ میکرو لیتری حاوی ۱۰ میکرو لیتر Master mix تجاری (Ampliqon)، ۱ میکرو لیتر (۱ میکرومول) از هر یک از پرایمرهای رفت و برگشت، ۲۰۰ng از DNA استخراج شده (۱ تا ۵ میکرو لیتر) و ۱۰ میکرو لیتر آب مقطر اضافه شد و پس از اطمینان از محکم بسته شدن درب تیوب‌ها، آن‌ها در دستگاه ترموسایکلر قرار داده شدند. دمای بهینه برای تکثیر ۶۰ درجه سانتی‌گراد انتخاب شد. مراحل دمایی واکنش شامل، ۵ دقیقه در ۹۵ درجه سانتی‌گراد، و سپس ۳۵ سیکل شامل ۹۵ درجه سانتی‌گراد به مدت ۳۰ ثانیه، ۶۰ درجه سانتی‌گراد به مدت ۴۰ ثانیه و ۷۲ درجه سانتی‌گراد به مدت ۴۰ ثانیه قرار داده شد و در مرحله انتهایی، در ۷۲ درجه سانتی‌گراد به مدت ۵ دقیقه قرار داده شد. برای تأیید قطعه تکثیر شده، محصولات بر روی ژل آگاروز ۱/۵ درصد برده شد و باند ۱۲۲ bp در کنار مارکر مشاهده شد (شکل ۱).



شکل ۲) نتایج محصولات Digest شده بر روی ژل ۲ درصد: چاهک ۱ نمونه سرطانی با ژنوتایپ GG، چاهک ۲ نمونه سرطانی با ژنوتایپ AA، چاهک ۳ نمونه سرطانی با ژنوتایپ GG، چاهک ۴ نمونه سرطانی با ژنوتایپ AA، چاهک ۵ نمونه سرطانی با ژنوتایپ AG/GA، چاهک ۶ تا ۹ نمونه‌های شاهد با ژنوتایپ AA

### آنالیز آماری

برای بررسی داده‌ها از نرم‌افزار SPSS (SPSS Inc، Chicago، USA، II) ویرایش ۱۹ استفاده شد. ابتدا درصد ژنوتایپ‌ها در هر گروه تعیین شد و سپس داده‌ها با آزمون جدول دو بعدی  $\chi^2$  مورد تجزیه و تحلیل آماری قرار گرفت تا مشخص شود که بین دو گروه از نظر ژنوتایپی تفاوت معنی‌داری وجود دارد یا خیر. از تعادل هاردی واینبرگ نیز برای تعیین فرکانس ال‌ها در هر گروه استفاده شد.

### یافته‌ها

متوسط سن افراد بیمار  $45 \pm 8$  سال و افراد کنترلی  $40 \pm 4$  بود. فرکانس ال‌ها و توزیع ژنوتایپ‌های Fas 1377 G/A در بیماران سرطان پستان و افراد کنترلی تعیین شد (جدول ۲) نتایج نشان می‌داد که بیماران مبتلا به سرطان پستان ژنوتایپ هموزیگوت AA را در ۴۶ مورد  $70/7$  و در افراد کنترلی ۳۲ نفر  $56/1$  درصد را نشان می‌دادند ( $P=0/11$ ).

در مورد ژنوتایپ هموزیگوت GG در افراد سرطانی ۱۸ مورد  $27/7$  درصد و در افراد کنترلی ۱۰ مورد

$17/5$  درصد را نشان می‌داد ( $P=0/13$ ). افراد هتروزیگوت AG/GA سرطانی شامل ۱ مورد  $1/53$  درصد و افراد کنترلی ۱۵ نفر  $26/3$  درصد را تشکیل می‌داد ( $P=0$ ). همچنین فرکانس ال A در بیماران  $71/5$  درصد و در افراد کنترلی  $69/3$  درصد بود. در مورد فرکانس ال G نیز در بیماران  $28/5$  درصد و در افراد کنترلی  $30/7$  درصد محاسبه شد. داده‌ها با نرم‌افزار SPSS ویرایش ۱۹، و به کمک  $\chi^2$  مورد تجزیه و تحلیل آماری قرار گرفت نتایج در مورد هر سه ژنوتایپ نشان می‌داد که مقدار P-value محاسبه شده بیش از  $0/01$  مقدار بحرانی با درجه آزادی ۱ بود در نتیجه فرض صفر مبنی بر نداشتن رابطه بین این پلی مورفیسم و سرطان پستان رد شده و با اطمینان ۹۹ درصد می‌توان گفت بین فراوانی مشاهده شده و فراوانی مورد انتظار تفاوت معنی‌داری وجود دارد و نتایج این مطالعه نشان می‌دهد که پلی مورفیسم Fas 1377 G/A می‌تواند در ایجاد سرطان پستان نقش داشته باشد.

جدول ۲) توزیع ژنوتایپها و فراوانی اللها در گروه سرطانی و کنترلی

فراوانی اللی		AG	GG	AA	ژنوتایپ نمونه‌ها
G	A				
٪۲۸/۵	٪۷۱/۵	۱ (٪۱/۵۳)	۱۸ (٪۲۷/۷)	۴۶ (٪۷۰/۷)	تعداد نمونه سرطانی ۶۵
٪۳۰/۷	٪۶۹/۳	۱۵ (٪۲۶/۳)	۱۰ (٪۱۷/۵)	۳۲ (٪۵۶/۱)	تعداد نمونه کنترل ۵۷
٪۱۸	٪۷۰/۵	۱۶ (٪۱۳/۱)	۲۸ (٪۲۲/۹)	۷۸ (٪۶۳/۹)	مجموع کل نمونه‌ها ۱۲۲

## بحث

مطالعات نشان داده که محافظت سیستم ایمنی (immune privilege) تا حدی به وسیله تولید و رهاسازی محلی سایتوکاین‌های مهار کننده ایمنی و نوتروفیل‌ها تأمین می‌شود. همچنین القاء آپاپتوز به وسیله میان کنش‌های Fas و Fas Ligand از مکانیسم‌های مهم برای immune privilege به حساب می‌آید (۱۷). در حال حاضر شواهد گسترده‌ای وجود دارد که حساسیت سلول‌های توموری نسبت به آپاپتوز به واسطه Fas به میزان زیادی کاهش می‌یابد. در انسان موتاسیون‌های سوماتیکی و جنسی germline در ژن Fas، با خطر بالای تومورهای لنفاوی و جامد در ارتباط است (۱۸).

Fas یا (CD95/ APO-1) از واسطه‌های مهم در سلول‌های T کشته شده است (۱۹). مطالعات نشان می‌دهد که تنظیم کاهشی در Fas ممکن است سلول‌های سرطانی را از حذف شدن با پاسخ‌های ایمنی ضد توموری محافظت دهد. در حالی که افزایش بیان Fas Ligand ممکن است توانایی سلول‌های توموری را برای حمله متقابل به سیستم ایمنی به وسیله القاء آپاپتوز در لنفوسیت‌های حساس به Fas افزایش دهد (۲۰). بیشتر مطالعات نشان می‌دهد که کاهش بیان Fas و یا افزایش بیان Fas Ligand توانایی آپاپتوز سلول‌ها را کاهش می‌دهد و بسیاری از سلول‌های

توموری ممکن است از دست سیستم ایمنی فرار کنند یا آنرا مهار نمایند. این موضوع از ویژگی‌های مشترک در تغییرات بدخیمی بوده و در مراحل اولیه گسترش بیشتر سرطان‌های انسانی از جمله سرطان سلول سنگفرشی سر و گردن دخالت دارد. با توجه به نقش مهم Fas و Fas Ligand در روند آپاپتوزیس، احتمالاً تغییر در ژن Fas و Fas Ligand مثل پلی‌مورفیسم‌های ژنتیکی می‌تواند بر خطر ابتلا به سرطان تأثیرگذار باشد (۲۱).

پروموتور Fas دارای توالی‌هایی برای اتصال فاکتورهای رونویسی است که بشدت بر روی بیان Fas در سلول‌ها تأثیر می‌گذارد. موتاسیون‌ها در پروموتور Fas با خطر ابتلا و شدت بیماری‌های اتوایمنی متعدد و بدخیمی‌ها دیگر مرتبط است (۲۲).

از این رو پلی‌مورفیسم FAS 1377 G>A در ارتباط با خطر گسترش سرطان ریه، سرطان پستان، سرطان سلول سنگفرشی مری، سرطان کلورکتال، سرطان سلول سنگفرشی سر و گردن و لوسمی میلوئیدی حاد شناخته شده است (۲۱). همچنین چندین مقاله متا - آنالیزی نیز نشان می‌دهد که پلی‌مورفیسم Fas -1377 G/A علاوه بر داشتن رابطه، با خطر ابتلا به سرطان، با چندین بیماری نظیر بیماری‌های روماتیسمی خود ایمنی، لوپوس اریتماتوز سیستمیک نیز مرتبط می‌باشد (۲۳).

در تحقیق مشابهی ارتباطش با سرطان سلول سنگفرشی مری مشخص شده بود (۲۴). تحقیق حاضر نشان می‌دهد که این پلی مورفیسم می‌تواند به‌عنوان یک فاکتور مؤثر در ابتلا به سرطان پستان در نظر گرفته شود. با مطالعاتی در آینده، بر روی تعداد نمونه بیشتر و سرطان‌های مختلف می‌توان از این پلی مورفیسم به‌عنوان یک فاکتور پیش آگهی‌دهنده استفاده نمود.

### سپاس و قدردانی

از زحمات پرسنل بیمارستان شهدای تجریش که در تهیه نمونه به ما کمک کردند سپاسگزاری می‌شود. همچنین از ریاست محترم مرکز تحقیقات پزشکی و پرسنل محترم که در انجام آزمایش‌ها همکاری نموده‌اند صمیمانه سپاسگزاری می‌شود.

### References:

1. Wang W, Zheng Z, Yu W, et al. Polymorphisms of the FAS and FASL genes and risk of breast cancer. *Oncology Letters*. March 2012; 3: 625-8.
2. Evan GI, Vousden KH. Proliferation, cell cycle and apoptosis in cancer. *Nature* 2001; 411: 342-348.
3. Fulda S. Modulation of apoptosis by natural products for cancer therapy. *Planta medica* 2010; 76: 1075-1079.
4. Inazawa J, Itoh N, Abe T, et al. Assignment of the human Fas antigen gene (Fas) to 10q24.1". *Genomics* 1992; 14 (3): 821-2.
5. Sheikh M, Fornace JA. Death and decoy receptors and p53-mediated apoptosis. *Leukemia* 2000; 14 (8): 1509-1513.
6. Peduto Eberl L, Guillou L, Saraga E, et al. Fas and Fas ligand expression in tumor cells and in vascular smooth-muscle cells of colonic and renal carcinomas. *Int J Cancer* 1999; 81: 772-778.
7. Rashedi I, Panigrahi S, Ezzati P, et al. Autoimmunity and Apoptosis – Therapeutic Implications. *Curr Med Chem* 2007; 14: 3139-3159.
8. Nagata S: Apoptosis by death factor. *Cell* 1997; 88(3): 355-365.
9. Cheng J, Liu C, Koopman WJ, et al. Characterization of human Fas gene. Exon/intron organization and promoter region. *J Immunol*. Feb 1995; 154(3): 1239-45.
10. Hashemi M, Fazaeli A, Ghavami S, et al. Functional Polymorphisms of FAS and FASL Gene and Risk of Breast Cancer – Pilot Study of 134 Cases. *PLOS ONE* 2013; 8 :e53075.
11. Zeng J, Fang Y, Li P. FAS-1377 A/G polymorphism in breast cancer: a meta-analysis. *Tumor biology* 2014; 35(3): 2575-81.
12. Miller SA, Dykes DD, Polesky HF. A simple salting out procedure for extracting DNA from human nucleated cells. *Nucleic Acids Res*. 1988;16:1215.
13. Zhang X, Miao X, Sun T, et al. Functional polymorphisms in cell death pathway genes FAS and FASL contribute to risk of lung cancer *J Med Genet* 2005;42: 479-484
14. Sun T, Miao X, Zhang X, et al. Polymorphisms of Death Pathway Genes FAS and FASL in Esophageal Squamous-Cell

نتایج مطالعه ما ارتباط پلی مورفیسم Fas 1377 G/A را با خطر ابتلا به سرطان پستان نشان می‌داد همان‌گونه که مقالات متعددی این نتایج حاصل شد مثلاً در مقاله متا آنالیزی جی زنگ (Zeng J) و همکاران در سال ۲۰۱۴ عنوان شد که این پلی مورفیسم با خطر ابتلا به سرطان پستان خصوصاً ال A در آسیایی‌ها مرتبط است (۱۱). در مقاله متاآنالیزی دیگری که بر روی ۱۳۳۵۵ فرد سرطانی (سرطان پستان و ریه) و ۱۶۰۷۸ نمونه کنترل تحقیق شد نتایج نشان می‌داد که پلی مورفیسم Fas 1377 G/A در آسیایی‌ها با خطر ابتلا به هر دو سرطان مرتبط است (۲۳).

نتایج به‌دست آمده از این تحقیق با نتایج سایر محققین از جمله مطالعه ونماین وانگ (Wenmin Wang) و همکاران بر روی بیماران چینی (۱) و تحقیق پتر کریپ (Peter Kripp) و همکاران بر روی بیماران مبتلا به سرطان پستان مطابقت داشت، همان‌گونه که

- Carcinoma. *JNCI J Natl Cancer Inst* 2004; 96 (13): 1030-1036.
15. Huang QR, Morris D, Manolios N. Identification and characterization of polymorphisms in the promoter region of the human Apo-1/Fas (CD95) gene. *Mol Immunol* 1997; 34: 577-82.
16. Sibley K, Rollinson S, Allan JM, et al. Functional FAS promoter polymorphisms are associated with increased risk of acute myeloid leukemia. *Cancer Res* 2003; 63: 4327-30.
17. Griffith TS, Brunner T, Fletcher SM, et al. Fas-ligand induced apoptosis as a mechanism of immune privilege. *Science* 1995; 270: 1189-92.
18. Muschen M, Warskulat U, Beckmann MW. Defining CD95 as a tumor suppressor gene. *J Mol Med* 2000; 78: 312-25.
19. Strand S, Hofmann WJ, Hug H, et al. Lymphocyte apoptosis induced by CD95 (APO-1/CD95) ligand expressing tumor cells—a mechanism of immune evasion? *Nat Med* 1996; 2: 1361-6.
20. Reichman E. The biological role of the Fas/FasL system during tumor formation and progression. *Semin Cancer Biol* 2002; 12: 309-15.
21. Lei D, Sturgis EM, Wang LE, et al. FAS and FASLG Genetic Variants and Risk for Second Primary Malignancy in Patients with Squamous Cell Carcinoma of the Head and Neck. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* June 2010; 19: 1484-91.
22. Singh R, Pradhan V, Patwardhan M. APO-1/Fas gene: Structural and functional characteristics in systemic lupus erythematosus and other autoimmune diseases. *Indian Journal of Human Genetics*. Sep-Dec 2009; 15(3): 98-102
23. Geng P, Li J., Ou J, et al. Association of Fas - 1377 G/A Polymorphism with Susceptibility to Cancer. *PLOS ONE* | www.plosone.org 1 February 2014; 9:(2): 1-8
24. Krippel P, Langsenlehner U, Renner W, et al. Polymorphisms of Death Pathway Genes FAS and FASL in Esophageal Squamous-Cell Carcinoma. *J National Cancer Institute* 2004; 96(19):1478-9.

*Original Article*

## Study of Fas 1377 G>A polymorphism in breast cancer of Iranian patients.

Z. Tahmasbi fard<sup>1\*</sup>, M. Hasanzad<sup>2</sup>, N. nafisi<sup>3</sup>

<sup>1</sup> Department of Molecular and Cell Biology, Advanced sciences ,Islamic Azad University, Tehran Medical Sciences Branch. Tehran, Iran

<sup>2</sup> Medical Genomics Research Center, Tehran Medical Sciences Branch, Islamic Azad University, Tehran, Iran

<sup>3</sup> Oncoplastic Breast Surgery , Cancer Research Center, Shahidbeheshhti University of Medical Sciences, Tehran, Iran

(Received 14 Sep, 2014      Accepted 10 Jan, 2015)

### *Abstract*

**Background:** Apoptosis or programmed cell death is essential for developing and tissue repair. Apoptosis stimulates by binding fas to fas ligand that plays an important role in regulation of the immune system. There are Conflicting data on the association between 1377 polymorphisms and susceptibility to cancer. This study has been conducted to investigation the relationship between polymorphism 1377 A / G in the Fas gene and breast cancer of Iranian patients.

**Materials and Methods:** 65 patients with breast cancer and 57 control subjects were studied. In this study, PCR-RFLP method was used to determine genotypes. Statistical analysis software SPSS 19, by two-dimensional tables X<sup>2</sup> test with 99% confidence intervals were calculated .

**Results:** The results were showed that the genotype AA 70.7%, GG 27.7%, AG 1.53% of breast carcinoma samples and genotypes AA 56.1%, GG 17.5%, AG 26.3% prevalence among the controls. Also according to Hardy-Weinberg equilibrium, the frequency of allele A in cancer patients was 71.5% and the frequency of G was 28.5% and the frequency of allele A in control subjects was 69.3% and for allele G 30.7% was calculated. Statistically significant relationship was observed between the two groups. (P-Value >0.01)

**Conclusion:** According to the findings of this study, polymorphism 1377 G / A in Fas gene were associated with susceptibility to breast cancer, and it can be considered as a factor in breast carcinogenesis.

**Key words:** Fas 1377 G / A, polymorphism, breast cancer, RFLP-PCR

\*Address for correspondence: Zahra Tahmasebi fard, Department of Molecular and Cellular Biology,Advanced sciences, Islamic Azad University, Tehran Medical Sciences Branch. Tehran, Iran. E mail: ztahmasebi@riau.ac.ir