



بررسی میزان بیان ژن E-cadherin در خون محیطی بیماران مبتلا به سرطان پستان در منطقه جنوب ایران

سیروس نعیمی^۱، علی متولی زاده اردکانی^۲، عباس قادری^۳، نصراله عرفانی^{۳*}

^۱ گروه زیست‌شناسی، واحد علوم و تحقیقات، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران

^۲ گروه ژنتیک مولکولی، انستیتو ملی مهندسی ژنتیک و بیوتکنولوژی، تهران

^۳ گروه ایمونولوژی سرطان، مرکز تحقیقات سرطان دانشگاه علوم پزشکی شیراز

(دریافت مقاله: ۹۳/۶/۳ - پذیرش مقاله: ۹۳/۷/۲۳)

چکیده:

زمینه: سرطان پستان شایع‌ترین بدخیمی در زنان است و به عنوان دومین عامل مرگ و میر ناشی از سرطان‌ها محسوب می‌شود. مولکول E-cadherin، یک مولکول گلیکوپروتئینی است که از عرض غشا عبور کرده و در اتصال سلول به سلول نقش اساسی را ایفا می‌کند. با توجه به نقش مولکول اشاره شده، به نظر می‌رسد که میزان بیان این مولکول می‌تواند در سرکوب تومور و جلوگیری از متاستاز تومور به دیگر قسمت‌های بدن نقش اساسی را ایفا نماید. هدف از این تحقیق بررسی میزان بیان مولکول E-cadherin در بیماران مبتلا به سرطان پستان در جنوب کشور و مقایسه آن با افراد سالم می‌باشد.

مواد و روش‌ها: با توجه به مطالعات انجام شده توسط دیگر محققین، در این مطالعه مورد-شاهدی، ۳۰ بیمار مبتلا به سرطان پستان مراجعه کننده به بیمارستان‌های شیراز و ۳۰ نفر به عنوان گروه کنترل شرکت داشتند. افراد کنترل دارای سابقه خانوادگی سرطان یا بیماری‌های خود ایمنی از مطالعه حذف گردیدند. از خون محیطی افراد جهت استخراج mRNA و ساختن cDNA استفاده شد و جهت تعیین میزان بیان ژن E-cadherin از روش Real Time PCR استفاده شد. آنالیز آماری به وسیله برنامه‌های نرم افزاری SPSS و ویرایش ۱۸ و آزمون Mannwithny انجام شد.

یافته‌ها: میان بیان ژن E-cadherin در افراد بیمار مبتلا به سرطان پستان، برابر ۰/۲۹ و در افراد کنترل برابر ۰/۳۳ بود، نتایج حاصل از تست‌های آماری، نشان‌دهنده عدم ارتباط میان میزان بیان ژن E-cadherin و بیماری سرطان پستان بود ($P > 0/05$). همچنین ارتباطی میان بیان ژن مذکور و فاکتورهای کلینیکی - پاتولوژیکی بیماران مشاهده نگردید.

نتیجه‌گیری: با توجه به عدم تفاوت معنی‌دار، میان میزان بیان ژن E-cadherin در بیماران و افراد گروه کنترل، به نظر می‌رسد که بیان ژن مذکور در افزایش استعداد ابتلا افراد به سرطان پستان در جمعیت جنوب ایران نقشی نداشته باشد.

واژگان کلیدی: سرطان پستان، بیان ژن، E-cadherin، اتصال سلول به سلول

* شیراز، گروه ایمونولوژی سرطان، مرکز تحقیقات سرطان، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی شیراز

مقدمه

E-cadherin در آدنو کارسینوما ما پرداختند (۸). همچنین در دیگر مطالعات نقش ضد تهاجمی و ضد متاستازی مولکول E-Cadherin مورد بررسی قرار گرفته و بر اساس آن پیشنهاد گردید که احتمالاً این نقش، با جدائی مولکول بتا کاتنین در کمپلکس اتصالی E-Cadherin- کاتنین می باشد که این کمپلکس نقش اصلی را در ارتباطات بین سلولی به عهده داشته و تغییر در ساختار آن می تواند منجر به تغییر در اتصالات بین سلولی و نهایتاً مهاجرت سلول ها گردد (۱۰-۸).

ژن E-Cadherin بر روی بازوی بلند کروموزوم شماره ۱۶ (۲۲-۱۶q۱) قرار دارد. مطالعات انجام شده توسط محققین، حاکی از یک همراهی از دست رفتن هتروژنسیته در بازوی بلند کروموزوم شماره ۱۶ با سرطان های گاستریک، پروستات و هپاتوسلولار می باشد (۳). این امر با فرکانس های متفاوتی در سرطان پستان دیده شده است بدین صورت که در مورد داکتال کارسینوما با ۵۰ درصد همراهی و در مورد سرطان لوبولار این امر حتی با درصد بالاتری دیده شده است (۱۱ و ۱۲).

موتاسیون در E-Cadherin که منجر به غیر فعال شدن عملکرد این مولکول می گردد، برای اولین بار در سرطان گاستریک منتشر گزارش شد. در این بیماری، موتاسیون باعث نادیده گرفتن آگزون ۷ یا ۹ می گردد که در نتیجه این پرش، منجر به یک حذف درون چارچوبی می شود (۱۳). با توجه به اینکه یکی از مشکلات اساسی در سرطان ها، دست اندازی سلول های توموری به دیگر مناطق بدن بوده که این امر با کنش واکنش ماتریکسی بین سلول های توموری و ارتباطات بین سلولی در محیط تومور صورت می گیرد و همچنین با توجه به نقش مولکول E-

اتصال سلول به سلول باعث مشخص شدن شارژ الکتریکی و شرکت سلول در تمایز و پایداری هوموستاز بافت می گردد. در خلال فرآیند سرطان زائی، این اتصال ارگانیزه شده، دچار تخریب می گردد که این تخریب در اثر تغییرات ژنتیکی و اپی ژنتیکی رخ می دهد. تغییرات ژنتیکی و اپی ژنتیکی منجر به تغییر در پیام رسانی، از دست رفتن ممانعت اتصالی و اختلالاتی در مهاجرت سلولی و کنش واکنش ماتریکسی^۱ می گردد (۱). یکی از مهم ترین مولکول ها دخیل در اتصال سلول به سلول، خانواده E-Cadherin ها می باشند. E-Cadherin ها به طور مشخص توانایی سرکوب تهاجم و متاستاز سلول های سرطانی را دارند (۲). اکثر سرطان های انسانی از نوع کارسینوما هستند که از بافت های اپی تلیال مشتق شده اند. در این بافت ها E-Cadherin یا کادهرین ها، پروتوتیپیک هستند.

سرطان های اپی تلیال اغلب در هنگام شروع تمایز به سمت بدخیمی مولکول E-Cadherin خود را یا کاملاً و یا به طور نسبی از دست می دهند که این امر در مورد سرطان تخمدان مشهودتر است و به نظر می رسد یک نقش اساسی در سرطان زائی در این ارگان را دارد (۳-۵). نقش این مولکول در سرطان پستان التهابی که یک فرم مشخص و پیشرفته سرطان پستان است، نیز مشخص شده است در این بیماری، مولکول

E-Cadherin به طور مشخص در سطح سلول های بافت های سرطانی کاهش یافته است (۶ و ۷).

در مطالعه ای که توسط پرل. آ. ک (Perl. AK) و همکاران انجام شده، این محققین به نقش پروتئین

¹ Matrix intraction

واکنش Real Time PCR

جهت بررسی میزان بیان ژن E-cadherin در افراد مورد مطالعه از روش Real Time PCR و با استفاده از Syber Green PCR Master Mix استفاده شد. در این روش از زوج پرایمر اختصاصی که توسط گروه تحقیقاتی و با استفاده از سایت NCBI طراحی گردیده، استفاده شد. همچنین جهت بررسی میزان بیان ژن S18 به عنوان کنترل داخلی (Gene Housekeeping) از زوج پرایمرهای اختصاصی استفاده گردید (جدول ۱).

جدول ۱) پرایمرهای اختصاصی جهت واکنش

Real Time PCR

| | |
|--------------------|----------------------|
| E.Cadherin Forward | TGCAGACCTTCCTCCCAATA |
| E.Cadherin Reverse | GATTCCTGGGTTGGGTCGTT |
| S18 Forward | GTTGATTAAGTCCCTGCCCT |
| S18 Reverse | TCCGAGGGCCTCACTAAACC |

واکنش Real Time PCR، ژنهای مذکور طبق روش زیر و با استفاده از دستگاه ترمال سایکلر بیو-راد انجام گرفت. میانگین $\Delta\Delta CT$ ، با استفاده از $2^{-\Delta\Delta CT}$ محاسبه شد. جهت انجام واکنش، به هر تیوپ ۱۰۰ میکرولیتری، مقدار ۱۰ میکرولیتر ماسترمیکس سایبرگرین با غلظت ۲ ایکس، ۰/۳ میکرولیتر از پرایمرهای Forward و Reverse با غلظت ۱۰ پیکو مولار (که با استفاده از نرم افزار Primer 3 طراحی شده‌اند) ۷/۴ میکرولیتر آب DEPC و ۲ میکرولیتر cDNA استفاده شد. تکثیر PCR در ۵۰ سیکل، با استفاده از برنامه زیر، انجام شد: ۹۵ درجه سانتی‌گراد به مدت ۱۰ دقیقه، ۹۵ درجه سانتی‌گراد به مدت ۱۵ ثانیه، ۵۵ درجه سانتی‌گراد به مدت ۲۰ ثانیه، ۶۰ درجه سانتی‌گراد به مدت ۱ دقیقه و مرحله Dissociation، ۹۵ درجه سانتی‌گراد به مدت ۱۵ ثانیه، ۶۰ درجه سانتی‌گراد به مدت ۱ دقیقه و ۹۵ درجه سانتی‌گراد به

cadherin در ارتباطات بین سلولی، هدف از این مطالعه بررسی میزان بیان ژن E-cadherin در بیماران مبتلا به سرطان پستان و مقایسه آن با افراد کنترل سالم و همچنین بررسی میزان بیان این ژن در افراد مبتلا به سرطان پستان که دچار متاستاز شده و افراد بیماری که متاستاز نداده، بوده است.

مواد و روش‌ها

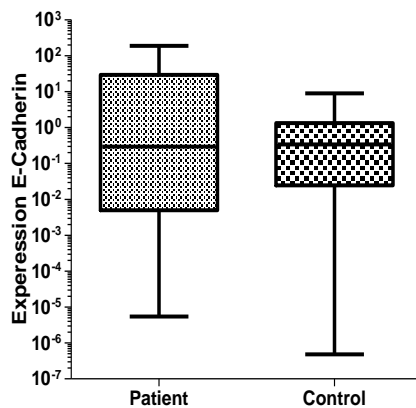
نمونه‌گیری

گروه مورد مطالعه شامل ۳۰ نفر مبتلا به سرطان پستان با میانگین سنی $(45/3 \pm 8/6)$ بود که در طی سال‌های ۱۳۹۰ تا ۱۳۹۲ به بیمارستان‌های شهید فقیهی و نمازی شیراز مراجعه نموده و ابتلای به سرطان آن‌ها با بررسی‌های پاتولوژیک تأیید شده بود. گروه کنترل شامل ۳۰ نفر با میانگین سنی $(47/6 \pm 7/4)$ که از نظر سن با گروه بیمار مطابقت داشتند و فاقد هرگونه سابقه سرطان و بیماری‌های خودایمنی در خود و بستگان درجه‌ی اول خود بودند. در این بررسی، تمامی شرایط اخلاقی پزشکی رعایت گردید و از بیماران رضایت‌نامه کتبی گرفته شده است.

استخراج RNA و سنتز cDNA

از داوطلبان حدود ۲۰۰ میکرولیتر خون سیاهرگی همراه با ماده ضد انعقاد EDTA (محلول ۱۰ درصد) گرفته شده، و با استفاده از کیت (Invisorb RNA kit II) ساخت شرکت و کشور (Germany). Trademarks) مبادرت به استخراج mRNA و برای سنتز cDNA از کیت (RevertAid H Minus) (Fermentase) (Thermo scientific USA) استفاده گردید در این روش از مقدار ۱۰ میکرولیتر RNA با غلظت ۵ میکروگرم استفاده شد.

در این تحقیق ۴۴ درصد از بیماران مبتلا به سرطان پستان در ناحیه چپ و ۵۶ درصد از بیماران مبتلا به سرطان پستان در ناحیه راست بودند. همچنین ۷۳/۴ درصد از بیماران مبتلا به سرطان پستان از نوع (IDC) (Infiltrative Ductal Carcinoma) و ۲۲/۶ درصد مبتلا به MC (Medulary Carcinoma) بودند.



نمودار ۱) میزان بیان E-cadherin در بیماران مبتلا به سرطان پستان و گروه کنترل

علاوه بر این ۱۸/۲ درصد از بیماران از نظر تمایز سلولی در مرحله تمایز خوب، ۵۴/۵ درصد در تمایز متوسط و ۲۷/۳ درصد نیز تمایز ناشناخته داشتند. در ۵۵ درصد از بیماران، گره لنفاوی درگیر شده بود در حالی که در ۴۵ درصد از موارد، درگیری گره لنفاوی وجود نداشت. همچنین در ۵۸/۸ درصد از موارد تهاجم به سایر مناطق مشاهده گردید در حالی که در ۴۱/۲ درصد از افراد تهاجم مشاهده نگردید. نتایج حاصله از بررسی میزان بیان ژن E-cadherin و فاکتورهای پیش آگهی دهنده تومور شامل ناحیه درگیر شده در بیماری، نوع تومور، مرحله بیماری (Stage)، وضعیت تهاجم تومور، مورد بررسی قرار گرفتند که تفاوت معنی داری از نظر آماری را نشان ندادند ($P > 0.05$) (جدول ۲).

مدت ۱۵ ثانیه انجام شد. در همه موارد، داده‌ها با ژن S18 به عنوان Gene Housekeeping مقایسه شد.

اصول کاربرد آمار زیستی

مطالعه آماری با استفاده از برنامه‌های آماری SPSS ویرایش ۱۸ (SPSS Inc، Chicago، IL، USA) و با آزمون Mannwithny استفاده شد. برای بررسی ارتباط میان میزان بیان ژن E-cadherin با فاکتورهای کلینیکال - پاتولوژیک بیماری از آزمون Kruskal-Wallis H استفاده شد و تمامی نمودارهای ارائه شده، با استفاده از نرم افزار GraphPad Prism 5 (GraphPad Inc. La Jolla, CA, USA) (Software)، تهیه گردید شد در این مطالعه ($P < 0.05$) معنی دار تلقی شد.

یافته‌ها

در این بررسی میزان بیان ژن دخیل در مهاجرت سلولی یعنی ژن، E-cadherin در ۳۰ بیمار مبتلا به سرطان پستان و ۳۰ نفر به عنوان گروه کنترل مورد مطالعه قرار گرفتند نمونه‌های خونی بیماران یک روز قبل از عمل جراحی گرفته شد و نهایتاً افرادی که بیماری آن‌ها توسط آزمایشات پاتولوژیکی مورد تأیید قرار گرفت در این بررسی شرکت داده شدند. اطلاعات کلینیکال- پاتولوژیکی تومور در بیماران در جدول ۲، نشان داده شده است. نتایج حاصل از بررسی‌ها نشان می‌دهد که میانگین میزان بیان ژن E-cadherin، در گروه بیماران برابر ۰/۲۹ می‌باشد. این میزان در مورد افراد کنترل ۰/۳۳ به دست آمد. نتایج حاصل با استفاده از آزمون Mann-Whitney نشان داد که تفاوت آماری معنی داری بین میزان بیان ژن E-cadherin در بیماران و افراد سالم مشاهده نگردید ($P = 0.83$) (نمودار ۱).

جدول ۲) اطلاعات کلینیکال - پاتولوژیک بیماران مبتلا به بیماری سرطان پستان و ارتباط آن با میزان بیان ژن E-cadherin در بیماران مبتلا به سرطان پستان

| P | آمار | تعداد | خصوصیات کلینیک- پاتولوژیکی |
|------|----------|-------|----------------------------|
| ۰/۱۲ | ۴۵/۳±۸/۶ | ۳۰ | سن (سال) |
| ۰/۳۳ | (/۸۳/۴) | ۳۰ | نوع تومور |
| ۰/۴۶ | ٪۵۵ | ۳۰ | درگیری با گره لنفاوی |
| ۰/۰۹ | ٪۴۵ | ۳۰ | درگیری با گره لنفاوی |
| | ٪۳۲/۲ | | کوچکتر و مساوی ۲ |
| ۰/۰۹ | ٪۵۹/۴ | ۳۰ | اندازه تومور (سانتی متر) |
| | ٪۸/۴ | | بین ۲ تا ۵ سانتی متر |
| | ٪۱۸/۲ | | بزرگتر از ۵ سانتی متر |
| ۰/۳۸ | ٪۵۴/۴ | ۳۰ | درجه بندی بافت شناسی |
| | ٪۲۷/۳ | | درجه ۱ (درجه تمایز خوب) |
| | ٪۴۱/۲ | | درجه ۲ (درجه تمایز متوسط) |
| ۰/۱۱ | ٪۵۲/۸ | ۳۰ | درجه ۳ (عدم تمایز) |
| | | | منفی |
| | | | مثبت |
| | | | دست اندازی به دیگر بافت ها |

بحث

در مطالعه دیگری که توسط بلچس چمیدت (Blechsmidt) بر روی سرطان تخمدان انجام دادند، ارتباط معنی داری بین افزایش بیان Snail و کاهش بیان E-cadherin مشاهده نمودند. آن‌ها همچنین تفاوت معنی داری در بیان ژن مذکور در تومور اولیه و متاستاز مشاهده نکردند (۱۷).

کاشیواگی (Kashiwagi) و همکاران با مطالعه بر روی سرطان‌های پستان فاقد علامت سه گانه^۲ به این نتیجه رسیدند که بیان این مولکول بر روی بافت‌های سرطانی به شدت کاهش یافته و از آن می‌توان به عنوان یک مارکر پیش آگهی برای کلاس بندی زیر گروه‌های سرطان‌های پستان فاقد علامت سه گانه^۳ استفاده نمود (۱۸).

مطالعات انجام شده در بیماری سرطان پستان تهاجمی توسط محققین به این نکته اشاره دارد که، کاهش یا عدم بیان این مولکول ممکن است یک همراهی با متاستاز به گره‌های لنفاوی مجاور داشته باشد (۱۹-۲۲). از طرف دیگر عدم تشابه در بیان ژن

سرطان پستان یکی از سرطان‌های شایع است. در سال‌های اخیر مطالعات متعددی به منظور تشخیص و ارزیابی شاخص‌های ژنتیکی درگیر در سرطان‌ها انجام شده که منجر به شناسایی ژن‌های مستعد کننده متعددی در بروز آن‌ها شده است. در بین این ژن‌ها، ژن‌های مربوط به تنظیم سیکل سلولی و ارتباط سلول با سلول، دارای اهمیت ویژه‌ای می‌باشند. مولکول E-cadherin CDH1 یک مولکول چسبنده می‌باشد که در متاستاز و تهاجم تومور نقش دارد (۱۴ و ۱۵). ژن کد کننده این پروتئین دارای ۱۶ آگرون بوده و اندازه آن حدود ۱۰۰ کیلو باز می‌باشد. نقش این ژن در سرطان مورد بررسی قرار گرفته است. در مطالعه‌ای که توسط کانو (Cano) و همکاران انجام شد، آن‌ها به این نتیجه رسیدند که نسخه برداری این ژن تحت تأثیر فاکتور نسخه برداری Snail می‌باشد همچنین آن‌ها متوجه شدند که میزان بیان این ژن در رده‌های سلولی که تهاجم و متاستاز را نشان می‌دهند، کاهش یافته است (۱۶).

² Triple-negative breast cancer (TNBC)

³ subgroups of TNBC

عوامل متعددی باشد از جمله این موضوع که اطلاعات به دست آمده در مطالعات قبلی در مواردی که بر روی رده‌های سلولی سرطانی بوده، به دلیل تفاوت‌های انکارناپذیری که در طبیعت سلول‌های سرطانی در بدن و محیط کشت به دلیل Micro environment و تقابل و تأثیرات سلول‌های سرطانی و محیط اطراف آن بر روی یکدیگر که غیر قابل انکار است، وجود دارد. بنابراین ممکن است نتایج حاصله با همدیگر متفاوت باشد همچنین با توجه به تأثیرگذاری فاکتورهای تنظیمی نسخه‌برداری متعددی مانند Snail بایستی به نقش عملکردی این فاکتورها در مکانیسم عملکرد ژن E-cadherin پرداخت.

در نهایت، نتایج حاصله نشان‌دهنده عدم تفاوت معنی‌دار میان میزان بیان ژن مولکول E-cadherin در خون محیطی بیماران نسبت به گروه کنترل بود. از طرفی این عدم ارتباط معنی‌دار در میزان بیان ژن مذکور و فاکتورهای کلینیکال - پاتولوژیکال بیماری فوق نیز مشاهده شد که با بعضی از گزارشات هیستوپاتولوژیکی در مطالعات قبلی همخوانی دارد با این وجود برای اینکه بتوان در مورد این مولکول و ارتباط آن با بیماری سرطان پستان به‌طور قطعی اظهار نظر نمود، نیاز به دیگر تحقیقات می‌باشد.

E-cadherin، مخصوصاً در کارسینومای لوبولار و داکتال پستان، قبلاً توسط برکس و آ.ک.س (Acs & Brax) و همکاران گزارش شده است (۲۳) و (۲۴). با این حال بعضی از مطالعات نشان‌دهنده عدم همراهی بیان این مولکول و درگیری گره لنگاوی در بیماران مبتلا به سرطان پستان می‌باشد (۲۵ و ۲۶). در مطالعه دیگری که انجام گرفته، مکدیسی (FB.A. Makdissi) و همکاران ارتباط معنی‌داری بین میزان بیان این مولکول و سرطان پستان مشاهده نمودند (۲۷).

در این تحقیق، میان بیماران مبتلا به سرطان پستان و افراد گروه کنترل تفاوت معنی‌داری از لحاظ میزان بیان ژن E-cadherin که نقش مهمی در اتصال سلولی و متاستاز سلول‌های سرطانی ایفا می‌کند مشاهده نگردید. از طرف دیگر ما به بررسی ارتباط میزان بیان ژن مذکور و فاکتورهای متعددی از قبیل ناحیه درگیر شده با تومور، نوع تومور، درجه تومور، میزان تمایز تومور، تهاجم تومور و سایر فاکتورها پرداختیم که نتایج نشان‌دهنده عدم ارتباط بیان ژن E-cadherin و عوامل اشاره شده بود نتایج این تحقیق با نتایج بعضی از مطالعات قبلی متفاوت بوده و در عین حال نتایج بعضی دیگر از مطالعات را تأیید می‌نماید. با این حال این تفاوت در نتیجه‌گیری‌ها ممکن است به دلیل

References:

1. Van Roy F, Berx G. The cell-cell adhesion molecule E-cadherin. *Cell Mol Life Sci* 2008; 65: 3756-88.
2. Hulpiau P, Van Roy F. Molecular evolution of the cadherin superfamily. *The international journal of biochemistry & cell biology* 2009; 41: 349-69.
3. Strumane K, Berx G, Van Roy F. Cadherins in cancer. *Cell adhesion: Springer*; 2004: 69-103.
4. Sundfeldt K. Cell-cell adhesion in the normal ovary and ovarian tumors of epithelial origin; an exception to the rule. *Mol Cell Endocrinol* 2003; 202: 89-96.
5. Naora H, Montell DJ. Ovarian cancer metastasis: integrating insights from disparate model organisms. *Nat Rev Cancer* 2005; 5: 355-66.
6. Kleer CG, van Golen KL, Braun T, et al. Persistent E-cadherin expression in inflammatory breast cancer. *Mod Pathol* 2001; 14: 458-64.

7. Alpaugh ML, Tomlinson JS, Shao ZM, et al. A novel human xenograft model of inflammatory breast cancer. *Cancer Res* 1999; 59: 5079-84.
8. Perl AK, Wilgenbus P, Dahl U, et al. A causal role for E-cadherin in the transition from adenoma to carcinoma. *Nature* 1998; 392: 190-3.
9. Vleminckx K, Vakaet L, Mareel M, et al. Genetic manipulation of E-cadherin expression by epithelial tumor cells reveals an invasion suppressor role. *Cell* 1991; 66: 107-19.
10. Jeanes A, Gottardi CJ, Yap AS. Cadherins and cancer: how does cadherin dysfunction promote tumor progression? *Oncogene* 2008; 27: 6920-9.
11. Cleton-Jansen AM, Callen DF, Seshadri R, et al. Loss of heterozygosity mapping at chromosome arm 16q in 712 breast tumors reveals factors that influence delineation of candidate regions. *Cancer Res* 2001; 61: 1171-7.
12. Berx G, Cleton-Jansen AM, Strumane K, et al. E-cadherin is inactivated in a majority of invasive human lobular breast cancers by truncation mutations throughout its extracellular domain. *Oncogene* 1996; 13: 1919-25.
13. Berx G, Becker KF, Hofler H, et al. Mutations of the human E-cadherin (CDH1) gene. *Hum mutat* 1998; 12: 226-37.
14. Chan AO, Lam SK, Wong BC, et al. Promoter methylation of E-cadherin gene in gastric mucosa associated with *Helicobacter pylori* infection and in gastric cancer. *Gut* 2003; 52: 502-6.
15. Waki T, Tamura G, Sato M, et al. Promoter methylation status of DAP-kinase and RUNX3 genes in neoplastic and non-neoplastic gastric epithelia. *Cancer Sci* 2003; 94: 360-4.
16. Cano A, Perez-Moreno MA, Rodrigo I, et al. The transcription factor snail controls epithelial-mesenchymal transitions by repressing E-cadherin expression. *Nat Cell Biol* 2000; 2: 76-83.
17. Blehnschmidt K, Sassen S, Schmalfeldt B, et al. The E-cadherin repressor Snail is associated with lower overall survival of ovarian cancer patients. *Br J Cancer* 2008; 98: 489-95.
18. Kashiwagi S, Yashiro M, Takashima T, et al. Significance of E-cadherin expression in triple-negative breast cancer. *Br J Cancer* 2010; 103: 249-55.
19. Qureshi HS, Linden MD, Divine G, et al. E-cadherin status in breast cancer correlates with histologic type but does not correlate with established prognostic parameters. *Am J Clin Pathol* 2006; 125: 377-85.
20. Yoshida R, Kimura N, Harada Y, et al. The loss of E-cadherin, alpha- and beta-catenin expression is associated with metastasis and poor prognosis in invasive breast cancer. *Int J Oncol* 2001; 18: 513-20.
21. Ramesh S, Nash J, McCulloch PG. Reduction in membranous expression of beta-catenin and increased cytoplasmic E-cadherin expression predict poor survival in gastric cancer. *Br J Cancer* 1999; 81: 1392-7.
22. Koseki S, Aoki T, Ansai S, et al. An immunohistochemical study of E-cadherin expression in human squamous cell carcinoma of the skin: relationship between decreased expression of E-cadherin in the primary lesion and regional lymph node metastasis. *J Dermatol* 1999; 26: 416-22.
23. Berx G, Cleton-Jansen AM, Nollet F, et al. E-cadherin is a tumour/invasion suppressor gene mutated in human lobular breast cancers. *EMBO J* 1995; 14: 6107-15.
24. Acs G, Lawton TJ, Rebbeck TR, et al. Differential expression of E-cadherin in lobular and ductal neoplasms of the breast and its biologic and diagnostic implications. *Am J Clin Pathol* 2001; 115: 85-98.
25. Gong Y, Sun X, Huo L, et al. Expression of cell adhesion molecules, CD44s and E-cadherin, and microvessel density in invasive micropapillary carcinoma of the breast. *Histopathology* 2005; 46: 24-30.
26. De la Cruz C, Moriya T, Endoh M, et al. Invasive micropapillary carcinoma of the breast: clinicopathological and immunohistochemical study. *Pathol Int* 2004; 54: 90-6.
27. Makdissi FB, Machado LV, Oliveira AG, et al. Expression of E-cadherin, Snail and Hkai in epithelial cells isolated from the primary tumor and from peritumoral tissue of invasive ductal breast carcinomas. *Braz J Med Biol Res* 2009; 42: 1128-37.

Original Article

Investigation of E-cadherin expression in Peripheral Blood of patients with breast cancer in a population from southern Iran

S. Naeimi¹, A. M.Ardekani², A.Ghaderi³, N.Erfani^{3*}

¹ Department of biology, Collage of Science, Tehran Science and Research branch, Islamic Azad University, Tehran, Iran

² Department of Molecular Genetic, National Institute of Genetic engineering and Biotechnology (NIGEB), Tehran, Iran

³ Department of Cancer Immunology, Shiraz Institute for Cancer Research , School of medicine, Shiraz University of medical sciences, Shiraz, Iran

(Received 25 Aug, 2014 Accepted 15 Oct, 2014)

Abstract

Background: Breast cancer is the most common malignancy in women, and is considered as the second causative factor in cancer mortality. E – Cadherin is a transmember glycoprotein and play a essential role in cell-cell adhesion .It seems that E-cadherin Gene expression can plays a role in suppressor of invasion and metastasistumor . The aim of this study was to evaluate the correlation of E-cadherin Gene expression with breast cancer in the women population of southern Iran.

Materials and Methods: 30 patients and 30 healthy individuals as control participated in this case-control study. mRNA extracted from peripheral blood. Real Time PCR technique was used to determine the Gene expression. The statistical analysis was performed by the software SPSS and Mannwithny test .

Results: The results indicated that there is no significant difference in level of E- cadherin Gene expression in patients with breast cancer and the control group ($P_v > 0.05$). Furthermore, we found no significant correlation between the E- cadherin Gene expression with the clinicopathological factors in the patients.

Conclusion: it seems that E- cadherin Gene expression, plays no important role in increasing the susceptibility of women to breast cancer in the population of southern Iran.

Key words: Breast cancer, Gene expression, E- cadherin, Cell –cell adhesion

*Address for correspondence: Cancer immunology group, Shiraz Institute for Cancer Research, School of medicine, Shiraz University of medical sciences, Shiraz, IRAN. Email: erfanin@sums.ac.ir