



## بررسی ارتباط بین پلی مورفیسم‌های ژن IL4 (rs2227284 و rs2243250) و خطر ابتلا به سرطان

### پروستات در مردان ایرانی

ندا خیاط حصارى<sup>۱</sup>، زهرا طهماسبی فرد<sup>۲\*</sup>، ایمان سلحشوری فرد<sup>۱</sup>

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

۲- گروه زیست‌شناسی، واحد رودهن، دانشگاه آزاد اسلامی، رودهن، ایران.

تاریخ دریافت: ۱۴۰۰/۰۵/۲۷، تاریخ پذیرش: ۱۴۰۰/۰۹/۱۴

#### چکیده

**مقدمه:** التهاب موجود در بافت‌ها از عوامل مرتبط با سرطان می‌باشد. اینترلوکین‌های ترشح شده از سلول‌های T کمکی نظیر IL4 با نقش دوگانه می‌توانند در ابتلا به سرطان مؤثر باشند. در این تحقیق رابطه بین پلی مورفیسم‌های rs2227284 (-33A/C) و rs2243250 (-589C/T) از ژن اینترلوکین IL4 و خطر ابتلا به سرطان پروستات مورد بررسی قرار گرفت.

**مواد و روش‌ها:** ۱۰۰ نمونه خون از بیماران مبتلا به سرطان پروستات و ۱۰۰ نمونه فرد سالم در همان طیف سنی، پس از تأیید پزشک متخصص انتخاب شدند. DNA نمونه‌ها به روش Salting out استخراج شد و خلوص آنها به کمک اسپکتروفتومتر و ژل تأیید شد. سپس پلی مورفیسم‌های موجود در ژن، با استفاده از تکنیک RFLP-PCR مورد بررسی قرار گرفت. نتایج حاصله به کمک نرم‌افزار SPSS و با آزمون‌های آماری کای دو و رگرسیون لجستیک بررسی شد.

**نتایج:** ژنوتایپ موتانت CC در پلی مورفیسم rs2227284 بین دو گروه سرطانی و سالم رابطه معناداری نشان داد (P:0.001, OR:2.976, CI95%: 1.569-5.644). همچنین هر دو پلی مورفیسم با سن بیشتر از ۶۰ سال، شاخص توده بدنی بالاتر از ۲۵ ارتباط آماری معناداری داشتند اما با مصرف سیگار ارتباطی نشان ندادند. هیچکدام از پلی مورفیسم‌ها با مرحله سرطان و نمره گلیسون مرتبط نبودند.

**نتیجه‌گیری:** پلی مورفیسم rs2227284 با خطر ابتلا به سرطان پروستات مرتبط بود و هر دو پلی مورفیسم بررسی شده، در سنین بالاتر از ۶۰ سال و افراد با شاخص توده بدنی بالاتر ارتباط معناداری با سرطان پروستات داشتند. تأیید این موضوع، نیازمند مطالعات بیشتر در جمعیت بزرگ‌تری است.

**واژه‌های کلیدی:** اینترلوکین ۴، rs2227284، rs2243250، پلی مورفیسم، سرطان پروستات.

\*نویسنده مسئول: تهران، دانشگاه آزاد اسلامی واحد رودهن، دانشکده علوم پایه، گروه زیست‌شناسی، ایران، تلفن: ۰۲۱-۷۶۵۰۵۰۱۵، نمابر: ۰۲۱-۷۶۵۰۵۰۱۵، Email: ztahmasebifard@yahoo.com

**ارجاع:** خیاط‌حصاری ندا، طهماسبی فرد زهرا، سلحشوری فرد ایمان. بررسی ارتباط بین پلی مورفیسم‌های ژن IL4 (rs2227284 و rs2243250) و خطر ابتلا به سرطان پروستات در مردان ایرانی. مجله دانش و تندرستی در علوم پایه پزشکی ۱۴۰۰؛ ۱۷(۱): ۳۹-۴۷.

## مقدمه

سرطان پروستات نوعی بیماری است که در آن سلول‌های بدخیم از بافت پروستات نشأت می‌گیرند و به‌طور نامنظم و فزاینده‌ای تکثیر یافته تا در نهایت منجر به افزایش حجم غده پروستات می‌شوند (۱ و ۲). سرطان پروستات دومین سرطان شایع تشخیص داده شده و ششمین علت اصلی مرگ و میر ناشی از سرطان در میان مردان سراسر جهان است. با توجه به آمارهای منتشر شده در سال ۲۰۱۸، یک میلیون و دویست و هفتاد و شش هزار مورد جدید و سیصد و پنجاه و نه هزار مرگ ناشی از این سرطان ثبت شده بود (۱).

مطالعات نشان داده که وقوع اکثریت سرطان‌های پروستات با استعداد ارثی همراه نبوده، اما سرطان‌های پروستات گسترش یافته یا تهاجمی‌تر می‌توانند با استعداد ارثی مرتبط باشند (۳). همچنین مطالعات بالینی اخیر، بیانگر آن است که التهاب نه تنها با پیشرفت سرطان در ارتباط است، بلکه شاخصی برای پیش‌آگهی ضعیف نیز می‌باشد (۴). التهاب مزمن با تولید انواع سیتوکین‌ها توسط سلول‌های التهابی از جمله اینترلوکین ۱ (IL-1)، اینترلوکین ۶ (IL-6) و اینترلوکین ۴ (IL-4) مرتبط است. این سیتوکین‌های تولید شده، علاوه بر تاثیر بر روی سلول‌های سیستم ایمنی، موجب تعدیل انواع مختلف سلول‌ها در ریز محیط‌های تومور و تحول سلول می‌شوند (۵). افزایش تولید IL-4 در سرطان‌های پستان، پروستات، ریه، سلول‌های کلیوی و دیگر سرطان‌ها گزارش شده است (۶-۹).

التهاب مرتبط با سرطان که در مراحل مختلف تومورزایی ایجاد می‌شود، به بی‌ثباتی ژنومی، تغییرات اپی‌ژنتیک، القای تکثیر سلول‌های سرطانی، تقویت مسیرهای ضد آپوپتوزی سرطان، تحریک رگ‌زایی و در نهایت انتشار سرطان کمک می‌کند. سلول‌های ایمنی التهابی از جمله CD4+ T بازیرگان اصلی التهاب مرتبط با سرطان هستند (۱۰). سلول‌های CD4+ T طیف وسیعی از پاسخ‌های ایمنی اکتسابی را تنظیم کرده و می‌توانند به چندین زیرمجموعه سلول T متمایز شوند. این سلول‌ها، در شکل دادن به ایمنی خاص تومور کمک می‌کنند. برای مثال، سلول‌های Th1 می‌توانند با غلبه بر تحمل نسبت به آنتی‌ژن‌های خودی بیان شده توسط تومور، ایمنی ضد توموری قوی ایجاد کنند یا برخی زیرمجموعه‌های سلول T CD4+، به‌ویژه سلول‌های T تنظیمی، ایمنی ضد توموری را سرکوب می‌نمایند در نتیجه، رشد سرطان را تقویت می‌کنند. این فعالیت‌ها نشان‌دهنده اهمیت حفظ هموستازی ایمنی و تحمل به خودی است که بدون آن، بیماری‌های خودایمنی و التهاب‌های پاتولوژیکی روی می‌دهد (۱۱).

IL-4 یک سیتوکین چند منظوره است که توسط سلول‌های CD4+ T، بازوفیل‌ها و ماست سل‌ها تولید شده و نقش قابل توجهی در تنظیم پاسخ‌های ایمنی ایفا می‌کند. اتصال این سیتوکین به زیر واحد زنجیره آلفا گیرنده اینترلوکین ۴ (IL4Rα) منجر به فعال شدن واسطه‌های رشد سلول،

مقاومت در برابر آپوپتوز و فعال‌سازی ژن‌های دخیل در مسیر سیگنالینگ سلول می‌شود. از مسیرهای سیگنالینگ فعال شده در اثر فعالیت IL-4 می‌توان به مسیرهای AKT(Ak strain transforming) / 42 / p44 NF-κB(nuclear MAPK (mitogen-activated protein kinase) و factor kappa light chain enhancer of activated B cells JAK (Signal Transducer and Activator of Transcription) / (STAT6(Signal transducer and activator of transcription 6 اشاره کرد (۱۱ و ۱۲). مطالعات بالینی و آزمایشگاهی انجام گرفته مبتنی بر افزایش سطح IL-4 (تولید شده توسط لنفوسیت‌های نفوذکننده در تومور) در بیماران مبتلا به سرطان پروستات پیشرونده نشان داده‌اند که IL-4 با استفاده از پروتکل مستقل از لیگاند، مسیر NF-κB و گیرنده آندروژن را فعال می‌کند. همچنین مطالعات حاکی از آنند که بیان بیش از حد IL-4 منجر به افزایش تکثیر رده‌های سلولی LNCaP و Rv1۲۲ آدنوکارسینوما پروستات انسان شده و علاوه بر این تیمار کردن با IL-4 باعث تکثیر سلول‌های PC3 بدون گیرنده آندروژن تحت استرس کاهش مواد مغذی می‌گردد (۱۳ و ۱۴). تجزیه و تحلیل بافت خوش‌خیم و بدخیم پروستات نیز نشان داد که منبع تولید IL-4 به جای لکوسیت‌های نفوذی، سلول‌های اپیتلیال هستند که با نقش دوگانه IL-4 در توسعه سرطان پروستات یا نقش محافظتی آن در بیماری‌های خوش‌خیم مطابقت دارد (۱۲).

تاکنون چندین مطالعه اپیدمیولوژیک ارتباط پلی‌مورفیسم ژن IL-4 را با خطر پیشرفت سرطان مورد بررسی قرار داده‌اند که از شایع‌ترین پلی‌مورفیسم‌های ژن مذکور که در سرطان‌های مختلفی یافت شده‌اند می‌توان به rs2243250 (-33A/C) و rs2243250 (-589C/T) اشاره کرد (۱۷-۱۵). در یک مطالعه متاآنالیزی پلی‌مورفیسم T > 590C- IL-4 (rs2243250) که در ناحیه پروموتور قرار دارد و می‌تواند موجب دو برابر شدن فعالیت رونویسی ژن گردد (۱۸). از این رو با توجه به نقش اساسی پلی‌مورفیسم‌های متنوع ژن اینترلوکین ۴ در بروز و پیشرفت سرطان‌های مختلف از جمله سرطان کلیه، مثانه (۱۹) سرطان معده (۲۰)، مطالعه حاضر با هدف بررسی ارتباط بین پلی‌مورفیسم‌های rs2243250 و rs2227284 از ژن IL4 و خطر ابتلا به سرطان پروستات در مردان ایرانی انجام گرفت.

## مواد و روش‌ها

۱۰۰ مرد ایرانی مبتلا به آدنوکارسینوما اولیه پروستات که از سال ۱۳۹۶ تا سال ۱۳۹۷ به بیمارستان امام خمینی مراجعه کرده بودند و با استفاده از معاینه بالینی رکتال Digital Rectal Exam (DRE) سطح سرمی PSA، بیوپسی سوزنی پروستات، گزارش هیستوپاتولوژی، به سرطان پروستات مبتلا بودند و تحت عمل جراحی رادیکال پروستاتکتومی قرار گرفته بودند، به‌عنوان گروه بیمار انتخاب شدند. حداقل سن افراد سرطانی ۳۳ سال و حداکثر ۷۵ سال قرار داشتند. افراد سالم هم در این

LAB، امریکا) حساسیت دستگاه در طول موج ۴۶۰ nm معادل dL/mg ۰/۰۴۶ (است) و ژل آگاروز ۱٪، نمونه‌ها در فریزر ۲۰- درجه سانتی‌گراد نگهداری شدند.

#### ژنوتایپینگ پلی‌مورفیسم‌های ژن IL-4

پس از تأیید نمونه‌های مناسب DNA، با پرایمرهای اختصاصی تکثیر شدند. واکنش PCR در حجم نهایی ۲۵ میکرولیتر شامل ۱۲/۵ میکرولیتر Taq DNA Polymerase 2x Master Mix RED (آمپلیکون، دانمارک)، ۱ (۱۰۰ ng) میکرولیتر DNA استخراج شده، ۰/۵ میکرولیتر از هر پرایمر (۱۰ پیکومول) و ۱۰/۵ میکرولیتر آب مقطر انجام گرفت. برنامه دستگاه ترموسایکلر (BioRad، امریکا) برای تکثیر قطعات موردنظر، شامل واسرشتگی اولیه در دمای ۹۵°C به مدت ۵ دقیقه و واسرشتگی در دمای ۹۵°C به مدت ۶۰ ثانیه، اتصال پرایمرها برای پلی‌مورفیسم rs2243250 و rs2227284 برای ۵۲°C به مدت ۴۰ ثانیه، طولیل شدن رشته الگو در دمای ۷۳°C به مدت ۴۰ ثانیه (مراحل دوم تا چهارم ۳۵ بار تکرار شد) و طولیل شدن نهایی به مدت ۵ دقیقه در دمای ۷۲°C بود. نتایج حاصل از تکثیر بر روی ژل آگارز ۲٪ الکتروفورز (BioRad، امریکا) شدند. حجم ۱۰ میکرولیتر از محصولات PCR به مدت یک شبانه‌روز در دمای ۳۷°C با آنزیم‌های محدودکننده *Nla IV* برای rs2243250 و *Bmr I* برای rs2227284 برش داده شد. محصولات برش داده شده PCR بر روی ژل آگارز ۳٪ (وزنی / حجمی) از پیش آغشته شده با DNA stain در ولتاژ ۱۰۰ ولت، به مدت ۴۰ دقیقه الکتروفورز شدند و با استفاده از دستگاه UV ترنسولومینیتور (BioRad، امریکا) نتایج بررسی شدند.

محدوده سنی انتخاب شدند. گروه کنترل نیز شامل افرادی بودند که بیماری خاصی نداشتند و هیچ نوع مصرف دارویی و یا زمینه وراثتی یا اکتسابی سرطان از جمله سرطان پروستات نداشتند. پروپوزال طرح در کمیته اخلاق دانشگاه آزاد اسلامی واحد علوم و تحقیقات مورد بررسی قرار گرفت و کد اخلاق به شماره IR.IAU.SRB.REC.1397.112 دریافت کرد. در مرحله اول اطلاعات بالینی بیماران، با توجه به فرم‌های تهیه شده، کامل شد و رضایت‌نامه کتبی با دادن آگاهی کامل از افراد موردنظر اخذ و سپس نمونه‌گیری آغاز گردید.

یکی از آزمایش‌های، غربالگری برای سرطان پروستات افزایش PSA (Prostate-Specific Antigen) > 4 (PSA نانوگرم در میلی‌لیتر یا یک DRE مشکوک به سرطان) است که منجر به مراجعه بیماران به بیمارستان‌ها جهت بررسی بالینی می‌شود. از این رو براساس جواب پاتولوژی نمونه پروستات حاصل از جراحی رادیکال پروستاتکتومی یا پروستاتکتومی باز، تشخیص نهایی سرطان یا BPH (Benign prostatic hyperplasia) انجام می‌گرفت. در مورد بیماران با سرطان پروستات مرحله بیماری (Stage) بر اساس سیستم TNM (TNM Guide Line) (T: size or direct extent of the primary tumor, N: degree of spread to regional lymph nodes, M: presence of distant metastasis)، درجه بدخیمی تومور (Grade) براساس سیستم Gleason grading ثبت گردید.

از تمامی افراد شرکت‌کننده ۵ میلی‌لیتر خون جهت استخراج DNA گرفته شد و به لوله‌های حاوی ۲۰۰ میکرولیتر ضد انعقاد EDTA ۰/۵ مولار اضافه شد. سپس استخراج DNA بر طبق روش نمک اشباع انجام گرفت و بعد از بررسی کمیت و کیفیت نمونه‌ها با اسپکتروفتومتر (US-

جدول ۱- توالی پرایمرهای اختصاصی، طول قطعات تکثیر شده و طول قطعات حاصل از برش آنزیمی برای پلی‌مورفیسم‌های rs2243250 و rs2227284

پلی‌مورفیسم‌ها	پرایمر	توالی 5'-3'	محصول PCR	قطعات برش خورده (جفت باز)
	رفت	GGTCTGTGACCAGCCTCACT		CC: ۲۳۶
Rs2227284	برگشت	GGCTGATGAAGGRRRRTTG	جفت باز ۲۳۶	AA: ۲۸ و ۱۹۸ ۳۸ CA: ۱۹۸، ۲۳۶ و TT: ۱۹۵
rs2243250	رفت	TAAACTGGGAGAACATTGT	جفت باز ۱۹۵	CC: ۱۷۷ و ۱۸ CT: ۱۸ و ۱۷۷، ۱۹۵
	برگشت	TGGGGAAAGATAGAGTAATA		

افراد انتخاب شده در هر دو گروه در محدوده سنی ۳۳ تا ۷۵ سال قرار داشتند. از نظر مصرف سیگار، ۲۹ نفر از افراد سرطانی و ۲۹ فرد سالم هرگز سیگار مصرف نداشتند، ۴۱ نفر از افراد سیگاری و ۳۹ نفر از افراد سالم گاهی سیگار می‌کشیدند و ۳۰ نفر از سرطانی‌ها و ۳۲ فرد از افراد سالم سیگاری بودند و از این نظر بین افراد سرطانی و سالم اختلاف آماری معناداری وجود نداشت ( $P=0/944$ ). گزارش پاتولوژی افراد سرطانی هم نشان داد که ۴۷٪ در مرحله I، ۳۸٪ در مرحله II، ۷٪ در مرحله III و ۸٪

نتایج حاصل از ژنوتایپینگ نمونه‌ها به کمک نرم‌افزار SPSS مورد بررسی قرار گرفت. ژنوتیپ افراد و فراوانی آلل‌ها با استفاده از آزمون مجذور کای (Chi-square) مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفت. نسبت شانس (OR) برای تخمین قدرت ارتباط بین دو پلی‌مورفیسم ژن IL-4 و خطر ابتلا به سرطان پروستات محاسبه شد. نسبت‌های شانس با فاصله اطمینان (CI) ۹۵٪ معین شدند.  $P < 0/05$  از نظر آماری معنادار در نظر گرفته شد.

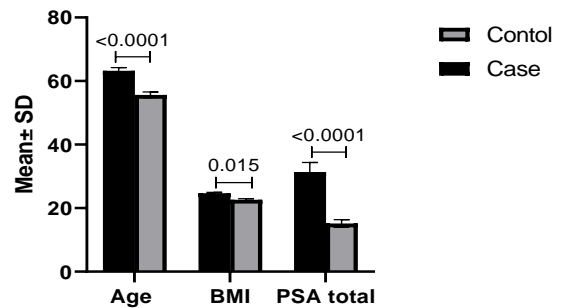
#### نتایج

میانگین شاخص‌های سن، BMI و PSA در دو گروه سرطانی و سالم در جدول ۲ آورده شده است.

فراوانی ژنوتیپ‌ها و آلل‌های پلی‌مورفیسم‌ها

پلی‌مورفیسم rs2227284 ژن IL-4 در میان افراد سرطانی برای ژنوتیپ‌های AA، CC و CA/AC به ترتیب فراوانی ۳۸٪، ۴۰٪ و ۲۲٪ داشت و بین افراد سالم فراوانی ژنوتیپ‌ها به ترتیب ۲۸٪، ۴۳٪ و ۲۹٪ مشاهده شد. فراوانی آلل A در نمونه‌های سرطانی ۴۹٪ و در نمونه‌های سالم ۴۲٪ بود. فراوانی آلل C در نمونه‌های سرطانی ۵۱٪ و در نمونه‌های سالم ۵۸٪ بود.

در مرحله IV بیماری قرار داشتند. از نظر گلیسین اسکور هم ۱۰٪ در G=۴، ۱۵٪ در G=۵، ۱۲٪ در G=۶، ۳۷٪ در G=۷، ۱۹٪ در G=۸ و ۷٪ در G=۹ قرار داشتند.



نمودار ۱- میانگین سن، شاخص توده بدنی، غلظت PSA سرمی در دو گروه سرطانی و سالم



شکل ۲- نتایج حاصل از برش آنزیمی برای پلی‌مورفیسم rs2243250

شکل ۱- نتایج حاصل از برش آنزیمی برای پلی‌مورفیسم rs2227284

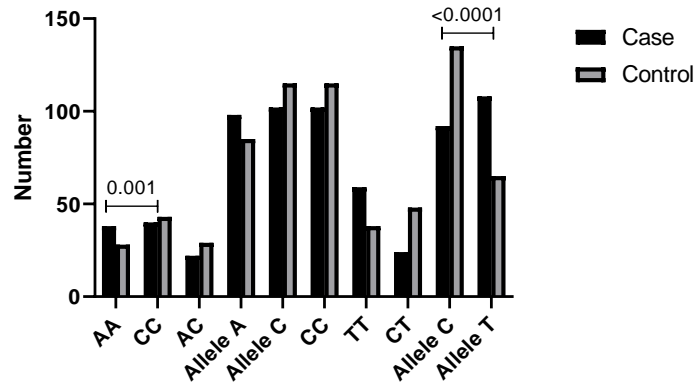
جدول ۲- میانگین سن، شاخص توده بدنی، غلظت PSA سرمی در دو گروه سرطانی و سالم

متغیر	میانگین ± انحراف معیار	گروه سرطانی	گروه سالم
سن	۶۳/۲۱ ± ۰/۹۹	۵۵/۶۴ ± ۰/۹۰	۵/۴۴ × ۱۰ <sup>-۸</sup>
شاخص توده بدنی	۲۴/۷۱ ± ۰/۲۵	۲۳/۶۱ ± ۰/۳۷	۰/۰۱۵
PSA کل	۳۱/۳۹ ± ۲/۹۶	۱۵/۱۶ ± ۱/۱۹	۶/۸۳ × ۱۰ <sup>-۷</sup>

نتایج حاصل از برش آنزیمی تعدادی از نمونه‌های سرطانی، بر روی ژل آگاروز ۳٪ در شکل‌های ۱ و ۲ مشخص شده‌اند.

جدول ۳- نتایج فراوانی ژنوتیپ‌ها و آلل‌های پلی‌مورفیسم‌های مورد مطالعه با آزمون رگرسیون لوچستیک

پلی‌مورفیسم	ژنوتایپ‌ها / آلل‌ها	گروه سرطانی (۱۰۰ فرد)	گروه سالم (۱۰۰ فرد)	P.V	نسبت شانس (فاصله اطمینان ۹۵٪)
rs2227284 (A/C)	AA	۳۸	۲۸	رفرنس	
	CC	۴۰	۴۳	۰/۰۰۱	۲/۹۷۶ (۱/۵۶۹-۵/۶۴۴)
الل‌ها	AC/CA	۲۲	۲۹	۰/۰۷۴	۲/۱۷۲ (۰/۹۲۷-۵/۰۹۲)
	A	۹۸	۸۵	رفرنس	
	C	۱۰۲	۱۱۵	۰/۱۹۲	۰/۷۶۹ (۰/۵۱۹-۱/۱۴۱)
rs2243250 (C/T)	CC	۵۹	۳۸	رفرنس	
	TT	۲۴	۴۶	۰/۲۵۵	۱/۴۵۹ (۰/۷۶۱-۲/۷۹۷)
	CT/TC	۱۷	۱۶	۰/۵۶۹	۰/۸۱۶ (۰/۴۰۴-۱/۶۴۵)
الل‌ها	C	۱۳۵	۹۲	رفرنس	
	T	۶۵	۱۰۸	۱/۷ × ۱۰ <sup>-۵</sup>	۰/۴۱۰ (۰/۲۷۳-۰/۶۱۶)

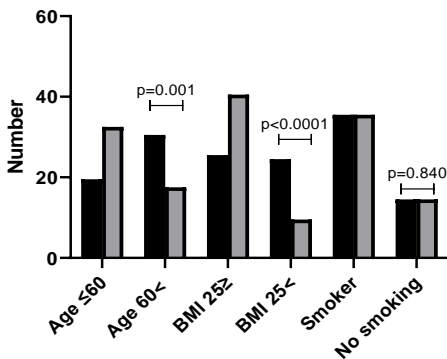


نمودار ۲- فراوانی ژنوتیپ‌ها و آلل‌ها در دو گروه مورد مطالعه

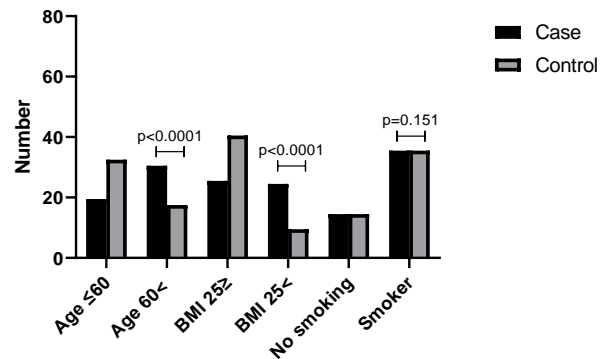
سمت چپ ژنوتایپ‌ها و آلل‌های پلی مورفیسم rs2227284 A/C و سمت راست ژنوتایپ‌ها و آلل‌های پلی مورفیسم rs2243250 C/T

جدول ۴- ارتباط بین پراکندگی ژنوتایپ‌ها و شاخص‌های سن، BMI و مصرف سیگار

مصرف سیگار		شاخص توده بدنی		سن		گروه	ژنوتایپ / پلی مورفیسم
خبر	بله	۲۵<	۲۵≥	۶۰<	۶۰≥		rs2227284
۸	۱۶	۱۲	۱۲	۱۳	۱۱	سرطانی	AA
۱۴	۳۲	۱۳	۳۳	۱۱	۳۵	سالم	CC
۱۹	۴۰	۲۹	۳۰	۴۰	۱۹	سرطانی	AC/CA
۱۱	۲۷	۳	۳۵	۱۶	۲۲	سالم	P.V
۲	۱۵	۸	۹	۸	۹	سرطانی	rs2243250
۴	۱۲	۳	۱۳	۸	۸	سالم	CC
۰/۱۰۹	۰/۰۱۷	۰/۰۰۲	۰/۰۱۶	۰/۰۱۵۹	۰/۰۳۵		TT
۱۳	۲۷	۱۷	۲۳	۲۵	۱۵	سرطانی	CT/TC
۱۷	۲۶	۵	۳۸	۱۵	۲۸	سالم	P.V
۹	۲۹	۲۳	۱۵	۲۴	۱۴	سرطانی	
۶	۲۲	۹	۱۹	۹	۱۹	سالم	
۷	۱۵	۹	۱۳	۱۲	۱۰	سرطانی	
۶	۲۳	۵	۲۴	۱۱	۱۸	سالم	
۰/۵۴۶	۰/۲۶۴	۰/۶۹۸	۰/۷۲۵	۰/۲۸۶	۰/۷۷۷		



Genotypes of rs2243250 and Variables



Genotypes of rs2227284 and Variables

نمودار ۴- توزیع فراوانی ژنوتیپ‌ها در زیر گروه‌های متغیرهای بررسی شده

سمت چپ ژنوتایپ‌های پلی‌مورفیسم rs2243250 و نمودار سمت راست ژنوتایپ‌های پلی‌مورفیسم rs2227284، در زیر گروه‌های سن ( $60 < & \geq 60$ )، شاخص توده بدنی ( $25 < & \geq 25$ ) و مصرف سیگار را نشان می‌دهد.

پلی‌مورفیسم rs2243250 ژن IL-4 در گروه سرطانی برای ژنوتایپ‌های CC، TT و CT/TC به ترتیب ۵۹٪، ۲۴٪ و ۱۷٪ و برای افراد سالم ۳۸٪، ۴۶٪ و ۱۶٪ در گروه کنترل بود. فراوانی ال C در نمونه‌های توموری ۶۷٪ و در نمونه‌های کنترل ۴۶٪ بود. فراوانی ال T در نمونه‌های توموری ۳۳٪ و در نمونه‌های کنترل ۵۴٪ بود.

فراوانی ژنوتایپ‌ها و آلل‌ها در نمونه‌های سرطانی و سالم برای پلی‌مورفیسم‌های rs2227284 & rs2243250 در جدول ۳ مشخص شده‌اند.

ارتباط بین پراکندگی ژنوتایپ پلی‌مورفیسم‌های rs2227284 و rs2243250 با سایر شاخص‌ها

فراوانی ژنوتایپ‌های هر پلی‌مورفیسم با مرحله بیماری و درجه گلیسون اسکور مورد ارزیابی قرار گرفت. اما هیچکدام از پلی‌مورفیسم‌ها ارتباط معناداری نداشتند.

بررسی سایر شاخص‌ها از جمله افزایش سن، افزایش BMI و مصرف سیگار با فراوانی ژنوتایپ‌ها در جدول ۴ آورده شده است. توزیع فراوانی ژنوتایپ‌ها در ارتباط با متغیرها با رگرسیون لجستیک بررسی شد. ژنوتایپ‌های پلی‌مورفیسم‌های rs2243250 و rs2227284 با افزایش سن و شاخص توده بدنی ارتباط معناداری داشتند. اما با مصرف سیگار هیچکدام از این پلی‌مورفیسم‌ها ارتباط معناداری نداشتند.

## بحث

بررسی سایر شاخص‌ها از جمله افزایش سن، افزایش BMI و مصرف سیگار با فراوانی ژنوتایپ‌ها در جدول ۴ آورده شده است. توزیع فراوانی ژنوتایپ‌ها در ارتباط با متغیرها با رگرسیون لجستیک بررسی شد. ژنوتایپ‌های پلی‌مورفیسم‌های rs2243250 و rs2227284 با افزایش سن و شاخص توده بدنی ارتباط معناداری داشتند. اما با مصرف سیگار هیچکدام از این پلی‌مورفیسم‌ها ارتباط معناداری نداشتند.

با توجه به نتایج به دست آمده از تحقیق حاضر، مشخص گردید که ژنوتایپ موتانت CC از پلی‌مورفیسم rs2227284 تأثیر بالایی در ابتلای افراد به سرطان پروستات دارد و رابطه معناداری بین دو گروه بیمار و کنترل یافت شد. اما پلی‌مورفیسم rs2243250 هیچگونه تأثیر معناداری در ابتلای افراد به این سرطان ندارد.

مشابه با این تحقیق تیندال و همکاران در سال ۲۰۱۰ به بررسی ارتباط بین پلی‌مورفیسم‌های rs2243250 و rs2227284 از IL4 و سرطان پروستات پرداختند. نتایج آنها نشان داد که این پلی‌مورفیسم‌ها باعث کاهش فعالیت IL4 شده و در نهایت خطر ابتلای افراد با این پلی‌مورفیسم به سرطان پروستات افزایش می‌یابد (۲۹). در بررسی ما نیز پلی‌مورفیسم rs2227284 با خطر ابتلا به سرطان پروستات در مردان ایرانی مرتبط بود. در مطالعه متآنالیز جیا و همکاران در سال ۲۰۱۷ مشخص شد که پلی‌مورفیسم rs2243250 با احتمال بالای خطر ابتلا به سرطان معده و سرطان پستان در ارتباط است (۳۰). در مطالعه متآنالیزی دیگر که در سال ۲۰۱۵ توسط لو و همکاران انجام شد، پلی‌مورفیسم rs2243250 در ابتلا به سرطان مثانه مؤثر بود (۱۸). اما در بررسی ما ارتباطی بین این پلی‌مورفیسم و سرطان پروستات مشاهده نشد. شاید حجم آماری نمونه‌های مورد بررسی از دلایل عدم مطابقت نتایج بود.

بررسی سایر شاخص‌ها از جمله افزایش سن، افزایش BMI و مصرف سیگار با فراوانی ژنوتایپ‌ها در جدول ۴ آورده شده است. توزیع فراوانی ژنوتایپ‌ها در ارتباط با متغیرها با رگرسیون لجستیک بررسی شد. ژنوتایپ‌های پلی‌مورفیسم‌های rs2243250 و rs2227284 با افزایش سن و شاخص توده بدنی ارتباط معناداری داشتند. اما با مصرف سیگار هیچکدام از این پلی‌مورفیسم‌ها ارتباط معناداری نداشتند.

فراوانی ژنوتایپ‌های هر پلی‌مورفیسم با مرحله بیماری و درجه گلیسون اسکور مورد ارزیابی قرار گرفت. اما هیچکدام از پلی‌مورفیسم‌ها ارتباط معناداری نداشتند.

بررسی سایر شاخص‌ها از جمله افزایش سن، افزایش BMI و مصرف سیگار با فراوانی ژنوتایپ‌ها در جدول ۴ آورده شده است. توزیع فراوانی ژنوتایپ‌ها در ارتباط با متغیرها با رگرسیون لجستیک بررسی شد. ژنوتایپ‌های پلی‌مورفیسم‌های rs2243250 و rs2227284 با افزایش سن و شاخص توده بدنی ارتباط معناداری داشتند. اما با مصرف سیگار هیچکدام از این پلی‌مورفیسم‌ها ارتباط معناداری نداشتند.

مطالعات پیشین نقش مهم سیتوکین‌های پیش‌التهابی مانند IL-1 و IL-6 را در بروز سرطان‌های مختلف، به اجمال توضیح داده‌اند (۲۳ و ۲۴). اگرچه مطالعات محدودتری در ارتباط با اثرات سیتوکین‌های ضدالتهابی مانند IL-4 بر بروز و شدت سرطان پروستات انجام گرفته است.

IL-4 یک سیتوکاین پلی‌تروپیک است که توسط سلول‌های CD4+ T در پاسخ به فعال شدن گیرنده آن تولید می‌شود. این امر موجب بروز پاسخ‌های مختلف در بافت‌های اندوتلیال، اپی‌تلیال، عضله، فیبروبلاست، سلول‌های کبدی و مغز شده که عموماً پیام‌رسانی آن از طریق زیر واحد



- International Journal of Molecular Sciences. 2021;22:2998. doi: 10.3390/ijms22062998
7. Song X, Traub B, Shi J, Kornmann M. Possible Roles of Interleukin-4 and-13 and Their Receptors in Gastric and Colon Cancer. International Journal of Molecular Sciences. 2021;22:727. doi: 10.3390/ijms22020727
  8. Parveen S, Siddharth S, Cheung LS, Kumar A, Murphy JR, Sharma D, et al. IL-4 receptor targeting as an effective immunotherapy against triple-negative breast cancer. bioRxiv. 2020. doi: 10.1101/2020.08.05.238824
  9. Gonzalez-Aparicio M, Alfaro C. Implication of Interleukin Family in Cancer Pathogenesis and Treatment. Cancers 2021, 13, 1016. doi: 10.3390/cancers13051016.
  10. Gonzalez H, Hagerling C, Werb Z. Roles of the immune system in cancer: from tumor initiation to metastatic progression. Genes Dev. 2018; 32:1267-84. doi:10.1101/gad.314617.118
  11. Shiota H, Klinman DM., Ito Sh, Ito H, Kubo M and Ishioka Ch. IL4 from T Follicular Helper Cells Downregulates Antitumor Immunity. Cancer Immunol Res 2017;5:61-71. doi: 10.1158/2326-6066.
  12. Goldstein R, Hanley C, Morris J, Cahill D, Chandra A, Harper P, et al. Clinical investigation of the role of interleukin-4 and interleukin-13 in the evolution of prostate cancer. Cancers 2011;3:4281-93. doi: 10.3390/cancers3044281
  13. Nappo G, Handle F, Santer F, McNeill R, Seed R, Collins A, et al. The immunosuppressive cytokine interleukin-4 increases the clonogenic potential of prostate stem-like cells by activation of STAT6 signalling. Oncogenesis 2017;6:e342-e. doi: 10.1038/oncis.2017.23
  14. Lee SO, Pinder E, Chun JY, Lou W, Sun M, Gao AC. Interleukin-4 stimulates androgen-independent growth in LNCaP human prostate cancer cells. The Prostate 2008;68:85-91. doi: 10.1002/pros.20691
  15. Chu C-N, Wang Y-C, Chang W-S, Wang Z-H, Liu L-C, Wang S-C, et al. Association of interleukin-4 polymorphisms with breast cancer in Taiwan. In Vivo 2020;34:1111-6. doi: 10.21873/invivo.11882
  16. Chang W-S, Wang S-C, Chuang C-L, Ji H-X, Hsiao C-L, Hsu C-M, et al. Contribution of interleukin-4 genotypes to lung cancer risk in Taiwan. Anticancer Research 2015;35:6297-301. doi: 10.7603/s40681-016-0004-6
  17. Wang Y, Li H, Wang X, Gao F, Yu L, Chen X. Association between four SNPs in IL-4 and the risk of gastric cancer in a Chinese population. International journal of Molecular Epidemiology and Genetics 2017;8:45.
  18. Luo Y, Ye Z, Li K, Chen R, Li S, Pang J. Associations between polymorphisms in the IL-4 and IL-4 receptor genes and urinary carcinomas: a meta-analysis. International Journal of Clinical and Experimental Medicine 2015;8:1.227.
  19. Luo Y, Ye Z, Li K, Chen R, Li S, Pang J. Associations between polymorphisms in the IL-4 and IL-4 receptor genes and urinary carcinomas: a meta-analysis. Int J Clin Exp Med 2015;8:1227-33.
  20. Yun Y, Dong W, Chen C, Zhang H, Shi N, He M, Chen X. Roles of IL-4 genetic polymorphisms and haplotypes in the risk of gastric cancer and their interaction with environmental factors. Int J Clin Exp Pathol 2017;10:8936-8943.
  21. Pandya PH, Murray ME, Pollok KE, Renbarger JL. The immune system in cancer pathogenesis: potential therapeutic approaches. Journal of Immunology Research 2016;2016:4273943. doi: 10.1155/2016/4273943.
  22. Greten FR, Grivnenkov SI. Inflammation and cancer: triggers, mechanisms, and consequences. Immunity 2019;51:27-41. doi:10.1016/j.immuni.2019.06.025
  23. Hunter CA, Jones SA. IL-6 as a keystone cytokine in health and disease. Nature Immunology 2015;16:448-57. doi: 10.1038/ni.3153

از سویی دیگر تحقیقات صورت گرفته حاکی از آنند که سطح سرمی IL4 و IL13 تأثیرات متفاوتی را بر روند پیشرفت سرطان می‌گذارند به طوری که در بیماران مبتلا به سرطان خوش‌خیم پروستات، سطح سرمی IL4 به شدت افزایش می‌یابد (۱۲).

همچنین نتایج ارتباط پراکندگی ژنوتایی و شاخص‌های سن، BMI و مصرف سیگار نشان داد که تنها پلی مورفیسم rs2227284 ژن IL-4 با سن زیر ۶۰ سال، BMI بیش از ۲۵ و مصرف سیگار ارتباط معناداری داشت. اما هیچکدام از پلی مورفیسم‌های مورد مطالعه با مرحله بیماری و نمره گلیسون ارتباطی نداشتند.

تحقیق حاضر نشان‌دهنده ارتباط ژنوتپ هموزیگوت موتانت پلی مورفیسم rs2227284 و خطر ابتلا به سرطان پروستات بود. از این رو بررسی نقش ژنوتپ‌های پلی مورفیسم‌های ژن IL-4 می‌تواند به درک بهتری از نقش این پلی مورفیسم‌ها در ابتلا به انواع بیماری‌ها از جمله انواع سرطان‌ها مفید باشد. بنابراین یافته‌های مطالعه حاضر نشان می‌دهد که IL-4 ممکن است به‌عنوان یک نشانگر تشخیصی برای مدیریت مؤثر سرطان پروستات در آینده استفاده شود و این درحالی است که برای تأیید این موضوع مطالعات بیشتری با جمعیت بزرگ‌تر لازم است.

### تشکر و قدردانی

مقاله حاضر از پایان نامه دانشجوی کارشناسی ارشد (ندا خیاط حساری) استخراج شده است و تمامی هزینه‌ها با ایشان بوده است. از تمامی پرسنل بیمارستان امام خمینی بخش مرکز تحقیقات دستگاه تناسلی- ادراری و دکتر امینی که در تهیه نمونه همکاری داشتند، تشکر و قدردانی می‌شود.

پروپوزال طرح در کمیته اخلاق دانشگاه آزاد اسلامی واحد علوم و تحقیقات مورد بررسی قرار گرفت و کد اخلاق به شماره IR.IAU.SRB.REC.1397.112 دریافت شد.

### References

1. Culp MB, Soerjomataram I, Efstathiou JA, Bray F, Jemal A. Recent global patterns in prostate cancer incidence and mortality rates. European Urology 2020;77:38-52. doi: 10.1016/j.eururo.2019.08.005
2. Sartor O, de Bono JS. Metastatic prostate cancer. New England Journal of Medicine 2018;378:645-57. doi: 10.1056/NEJMr1701695
3. Benafif S, Eeles R. Genetic predisposition to prostate cancer. British Medical Bulletin 2016;120:75-89. doi: 10.1093/bmb/ldw039
4. Cruz SM, Balkwill FR. Inflammation and cancer: advances and new agents. Nature reviews Clinical Oncology 2015;12:84-96. doi: 10.1038/nrclinonc.2015.105
5. Culig Z. Cytokine imbalance in common human cancers. Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Molecular Cell Research. 2011;1813:308-14. doi: 10.1016/j.bbamcr.2010.12.010
6. Shi J, Song X, Traub B, Luxenhofer M, Kornmann M. Involvement of IL-4, IL-13 and Their Receptors in Pancreatic Cancer.

24. Baker KJ, Houston A, Brint E. IL-1 family members in cancer; two sides to every story. *Frontiers in Immunology* 2019;10:1197. doi: [10.3389/fimmu.2019.01197](https://doi.org/10.3389/fimmu.2019.01197)
25. Gadani SP, Cronk JC, Norris GT, Kipnis J. IL-4 in the brain: a cytokine to remember. *The Journal of Immunology* 2012;189:4213-9. doi: [10.4049/jimmunol.1202246](https://doi.org/10.4049/jimmunol.1202246)
26. Li Z, Chen L, Qin Z. Paradoxical roles of IL-4 in tumor immunity. *Cellular & Molecular Immunology* 2009;6:415-22. doi: [10.1038/cmi.2009.53](https://doi.org/10.1038/cmi.2009.53)
27. Hosoyama T, Aslam MI, Abraham J, Prajapati SI, Nishijo K, Michalek JE, et al. IL-4R drives dedifferentiation, mitogenesis, and metastasis in rhabdomyosarcoma. *Clinical Cancer Research* 2011;17:2757-66. doi: [10.1158/1078-0432.CCR-10-3445](https://doi.org/10.1158/1078-0432.CCR-10-3445)
28. Wen X, Xin X, Li J, Qiao L, Liu F, Guo Y, et al. The correlation between IL-4 polymorphisms and colorectal cancer risk in a population in Northwest China. *European Journal of Cancer Prevention* 2020;29:95-9. doi: [10.1097/cej.0000000000000503](https://doi.org/10.1097/cej.0000000000000503)
29. Tindall E, Severi G, Hoang H, Ma C, Fernandez P, Southey M, et al. Comprehensive analysis of the cytokine-rich chromosome 5q31.1 region suggests a role for IL-4 gene variants in prostate cancer risk. *Carcinogenesis* 2010;31:1748-54. doi: [10.1093/carcin/bgq081](https://doi.org/10.1093/carcin/bgq081)
30. Jia Y, Xie X, Shi X, Li S. Associations of common IL-4 gene polymorphisms with cancer risk: A meta-analysis. *Molecular Medicine Reports* 2017;16:1927-45. doi: [10.3892/mmr.2017.6822](https://doi.org/10.3892/mmr.2017.6822)





## Evaluation of the Relationship between IL4 Gene Polymorphisms (rs2227284 and rs2243250) and the Risk of Prostate Cancer in Iranian Men

Neda Khayat Hesari (M.Sc.)<sup>1</sup>, Zahra Tahmasebi Fard (Ph.D.)<sup>\*2</sup>, Iman Salahshourifar (Ph.D.)<sup>1</sup>

1- Dept. of Biology, Science and Research Branch, Islamic Azad University, Tehran, Iran.

2- Dept. of Biology, Roudehen Branch, Islamic Azad of University, Roudehen, Iran.

Received: 11 August 2021, Accepted: 5 December 2021

### Abstract:

**Introduction:** Inflammation in tissues is one of the factors associated with cancer. Interleukins secreted by helper T cells such as IL4 with a dual role can be effective in cancer. In this study, the relationship between rs2227284 (-33T / G) and rs2243250 (-589C / T) polymorphisms of the interleukin IL4 gene and the risk of prostate cancer was investigated.

**Methods:** 100 blood samples from patients with prostate cancer and 100 samples from healthy individuals in the same age range were selected after approval by a specialist. The DNA of the samples was extracted by salting out method and their purity was confirmed by spectrophotometer and gel. Then, the polymorphisms in the gene were examined using RFLP-PCR technique. The results were analyzed using SPSS software version 21 with chi-square and logistic regression tests.

**Results:** CC mutant genotype in rs2227284 polymorphism showed a significant relationship between cancer and healthy groups. (P.V: 0.001, OR: 2.976, CI95%: 1.569-5.644). Also, both this polymorphisms with age over 60 years, body mass index above 25 had a statistically significant relationship but did not show a relationship with smoking. None of the polymorphisms were associated with cancer stage and Gleason score.

**Conclusion:** The rs2227284 polymorphism was associated with a higher risk of prostate cancer, and both polymorphisms were significantly associated with prostate cancer in those over 60 years of age and those with a higher body mass index. Confirmation of this requires further studies in a larger population.

**Keywords:** Interleukin 4, rs2227284, rs2243250, Polymorphism, Prostate cancer.

Conflict of Interest: No

\*Corresponding author: Z. Tahmasebi Fard, Email: ztahmasebifard@yahoo.com

**Citation:** Khayat Hesari N, Tahmasebi Fard Z, Salahshourifar I. Evaluation of the relationship between IL4 gene polymorphisms (rs2227284 and rs2243250) and the risk of prostate cancer in Iranian men. Journal of Knowledge & Health in Basic Medical Sciences 2022;17(1):39-47.