

ارتباط بین پلی مورفیسم های rs139475791 از ژن HOX B13 با سرطان پروستات

سیدعلی عبدالهی اسکویی^۱، زهرا طهماسبی فرد^۲، پریسا مکوندی^۳، غزال ده پور^۴

^۱ گروه زیست شناسی، واحد بناب، دانشگاه آزاد اسلامی، بناب، ایران (نویسنده مسئول)

^۲ گروه زیست شناسی، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد رودهن، رودهن، ایران

^۳ گروه علوم زیستی دانشگاه پردیس بین الملل تبریز واحد ارس

^۴ گروه زیست فناوری دانشگاه آزاد اهواز، واحد اهواز

چکیده

مقدمه: سرطان پروستات دومین سرطان شایع و پنجمین عامل مرگ ناشی از سرطان مردان در سال ۲۰۱۲ در جهان شناخته شد. از میان عوامل ژنتیکی مرتبط با سرطان پروستات، ژن های دخیل در سم زدایی و حذف متابولیت های سمی از سلول نظیر ژن های خانواده بزرگ ژنی سیتو کروم P450 نقش اساسی در بیماری زایی این سرطان ایفا کرده و از این رو به عنوان هدفی جذاب به منظور شناسایی افراد مستعد ابتلا به سرطان پروستات شناخته می شوند. مطالعه حاضر با هدف بررسی ارتباط بین پلی مورفیسم های rs139475791 از ژن HOX B13 با سرطان پروستات در جمعیت ایرانی پرداخته است. مواد و روش ها: تحقیق حاضر از نوع موردی – شاهدهی متشکل از ۷۹ بیمار مبتلا به سرطان پروستات و ۷۹ فرد سالم بعنوان گروه شاهد بود که پس از خونگیری از آنها DNAی ژنومی با روش salting out استخراج گردید و ژنوتایپ افراد به کمک روش PCR_RFLP تعیین شد. اطلاعات به دست آمده به کمک نرم افزار IBMSPSS_23 و از مونهای آماری X و رگرسیون لجستیک مورد تجزیه و تحلیل آماری قرار گرفت. یافته ها: در خصوص ژنوتایپ موتانت TT رابطه معنی دار آماری بین دو گروه بیمار و کنترل مشاهده شد. و از نظر نسبت شانس ابتلا افراد بیمار ۲/۱۴۷ بود که تأثیر زیاد این تغییر در ابتلا به سرطان پروستات را نشان می دهد. نتیجه گیری: مطالعه حاضر نشان داد که مورفیسم های rs139475791 از ژن HOX B13 با سرطان پروستات ارتباط معناداری دارد.

واژه های کلیدی: سرطان پروستات، ژنتیک، پلی مورفیسم، HOX B13

مقدمه

پلی مورفیسم‌های ژنتیکی یکی از امیدوارکننده‌ترین نشانگرهای زیستی برای تحقق پزشکی شخصی شده در نظر گرفته می‌شوند. پلی مورفیسم‌های ژنتیکی تفاوت‌های بین فردی در DNA ژرمنی هستند و به عنوان تفاوت در توالی‌های ژنومی بین افراد تعریف می‌شوند که در فرکانس ۱٪ یا بیشتر در یک جمعیت رخ می‌دهند (۱). بیشتر پلی مورفیسم‌های ژنتیکی پلی مورفیسم‌های تک نوکلئوتیدی (SNPs) هستند و پلی مورفیسم‌ها نیز در توالی‌های مکرر مانند ریزماهورها شناسایی می‌شوند SNP. ها با فرکانس ۱~ در ۱۰۰۰ نوکلئوتید مشاهده می‌شوند و بیش از ۲ میلیون SNP در کل ژنوم انسان وجود دارد (۲) SNP. ها با توجه به عملکردشان به انواع زیر طبقه بندی می‌شوند SNP: های تنظیمی (rSNP)، که در مناطق پرموتر قرار دارند. کدگذاری SNP ها (cSNP) که در اگزون ها قرار دارند و باعث جایگزینی اسید آمینه می‌شوند SNP. های خاموش (sSNPs)، که در اگزون قرار دارند اما باعث جایگزینی اسید آمینه نمی‌شوند SNP. های اینترون (i SNP) که در اینترون ها قرار دارند. و ژنوم SNPs (gSNPs) که در نواحی بین ژنی قرار دارند (۳). بر این اساس، rSNPs و cSNPs احتمالاً بیان ژن و عملکرد پروتئین را تغییر می‌دهند که به ترتیب منجر به تفاوت های عملکردی و فنوتیپی می‌شود. علاوه بر این، i SNP ها و sSNP ها ممکن است بر سطح بیان ژن ها تأثیر بگذارند (۴). برعکس، گمان می‌رود که gSNP ها نقش عملکردی مستقیمی ندارند، اما ممکن است به عنوان نشانگرهای ژنومی مرتبط با SNPs های عملکردی متمایز عمل کنند (۵).

پلی مورفیسم‌های ژنتیکی می‌توانند تفاوت‌های فنوتیپی مختلفی را از طریق تغییر بیان و/یا فعالیت در ژن مربوطه ایجاد کنند. پلی مورفیسم‌های ژنتیکی نه تنها با حساسیت به بیماری بلکه با نتایج درمان نیز مرتبط هستند (۶). به عنوان مثال، یک پلی مورفیسم ژنتیکی در UGT^*28 (UGT^*A1) و UGT^*6 (UGT^*A1)، که UDP-glucuronosyl transferase را کد می‌کند، فعالیت آنزیم را کاهش می‌دهد و متابولیسم SN-۳۸، متابولیت فعال i ri notecan را به تاخیر می‌اندازد، که منجر به بروز بیشتر می‌شود. عوارض جانبی توسط i ri notecan. آزمایشی برای پلی مورفیسم‌های ژنتیکی در UGT^*A1 در ژاپن برای بیمارانی که با شیمی درمانی ایرینوتکان تحت درمان قرار خواهند گرفت، تأیید شده است. نشان داده شد که یک SNP در $NUDT^*15$ ($NUDT^*15$)، که آنزیم درگیر در متابولیسم تیوپورین ها را کد می‌کند، در پیش بینی عوارض جانبی تیوپورین ها مفید است. آزمایشی برای پلی مورفیسم‌های ژنتیکی در $NUDT^*15$ اخیراً در ژاپن برای بیمارانی که تحت درمان با تیوپورین قرار خواهند گرفت، تأیید شد (۷). بنابراین، اهمیت آزمایش پلی مورفیسم‌های ژنتیکی از جمله SNP در مراقبت‌های پزشکی در حال رشد است (۸).

چندین مطالعه مرتبط با ژنوم (GWAS) در مورد استعداد ابتلا به سرطان پروستات در گروه های بزرگ گزارش شده است که ارزش صدها SNP را با بروز سرطان پروستات نشان می‌دهد. علاوه بر این، مطالعات مختلف اهمیت SNP ها را در نتیجه درمان

دارویی برای سرطان پروستات گزارش کرده اند (۹). ارتباط زمینه ژنتیکی مانند نژاد و سابقه خانوادگی با نتیجه سرطان پروستات نشان داده شده است که نشان می دهد عوامل ژنتیکی نقش مهمی در درمان دارویی دارند. در این مقاله به بررسی ارتباط بین پلی مورفیسم های rs139475791 از ژن HOXB13 با سرطان پروستات می پردازیم.

روش اجرای پژوهش

این تحقیق در قالب یک مطالعه مورد-شاهدی و بر روی مجموع ۱۵۸ نفر از مراجعه کنندگان به مرکز تحقیقات دستگاه ادراری-تناسلی بیمارستان امام خمینی تهران انجام گرفته است. اطلاعات مربوط به سن، جنس، قومیت و نیز سوابق ابتلا به برخی بیماری های شایع از قبیل بیماری های قلبی-عروقی و دیابت از پرونده پزشکی بیماران گرفته شد سپس ۳CC از خون بیمار در یک لوله آزمایش حاوی (EDTA ۳ng/ml) ریخته و به آرامی مخلوط گردید تا مانع عمل انعقاد شود. نمونه ها در روی یخ نگهداری شدند. نمونه خون با EDTA مخلوط شد تا از لخته شدن آن جلوگیری شود.

در مرحله اول اطلاعات بالینی بیماران با توجه به فرمهای تهیه شده، کامل شد و رضایت نامه کتبی با دادن آگاهی کامل از افراد مورد نظر اخذ شده سپس نمونه گیری آغاز گردید.

ابتدا از افراد مورد بررسی ۵ میلی لیتر خون جهت استخراج DNA گرفته شد و به لوله های حاوی ماده ضد انعقاد EDTA ۰/۵ مولار ۲۰۰ میکرولیتر اضافه شد. سپس استخراج DNA بر طبق پروتکل استاندارد که در زیر به تفصیل توضیح داده شده است انجام گردید و نمونه های DNA تخلیص شده در دمای ۴ درجه سانتی گراد نگهداری شد. در ابتدا استخراج DNA انجام شد و سپس تکثیر ناحیه ای DNA به روش PCR صورت پذیرفت.

اولین مرحله برای انجام PCR، طراحی پرایمرهای مناسب جهت تکثیر قطعه مورد مطالعه می باشد. ویژگی های یک پرایمر مناسب عبارت است از:

اندازه مناسب: معمولاً طول پرایمرها ۲۵ تا ۳۲ bp می باشد.

دمای ذوب مناسب (TM): معمولاً TM پرایمرها ۵۰ تا ۷۵ درجه سانتی گراد است.

محتوای CG پرایمرها: در بهترین حالت ۴۰-۶۰٪ نوکلئوتیدهای موجود در یک پرایمر، CG می باشند.

بهتر است انتهای ۳' پرایمرها دارای باز آلی A یا T و انتهای ۵' آن دارای C یا G باشد.

برای طراحی پرایمرها در ابتدا اطلاعات مربوط به پلی مورفیسم، از دو سایت db SNP و snpedit جمع آوری گردید. پس از جمع آوری اطلاعات مربوط، توالی ناحیه مورد نظر که در برگزیده پلی مورفیسم هدف بود از سایت db SNP استخراج و با قرار دادن توالی در سایت ۳ MER PRI، پرایمرهای اولیه انتخاب شد (شکل ۲-۳).

سپس پرایمرهای اولیه بوسیله نرم افزار Gene Runner (version ۵.۰.۳۹)، از نظر دما، میزان GC و ساختارهای ثانویه بررسی و طراحی شد. بعداز طراحی، پرایمرها در سایت هایی مانند NCBI و UCSC بررسی شده تا از اختصاصی بودن پرایمرها طراحی شده اطمینان حاصل شود. مشخصات هر یک از پرایمر های طراحی شده در جدول ۳-۴ شرح داده شده است.

جدول ۱. مشخصات از پرایمر های طراحی شده برای انجام PCR

Name	Sequence 5'→3'	TM	PCR product	RE	Digestion
RS139475791 forward	GAGATCTTGCGCCTCTTGTC	60.1 C	189bp	<i>EaeI</i>	100/89
RS139475791 reverse	TCTGACCATGCCTTTTCCTC	60.2 C			100/89

جدول ۲. سیکل های PCR برای پلی مورفیسم rs139475791

Stages	Temperature	Time	Cycle
predenaturation	۹۵ ° C	۵ دقیقه	۱ سیکل
Denaturation	۹۵ ° C	۱ دقیقه	۳۷ سیکل
Annealing	۵۸ ° C	۳۰ ثانیه	۳۷ سیکل
Extension	۷۲ ° C	۴۰ ثانیه	۳۷ سیکل
Final extension	۷۲ ° C	۷ دقیقه	۱ سیکل

برای تحلیل آماری در پژوهش حاضر، متغیر های کمی با میانگین \pm انحراف معیار و متغیر های کیفی به صورت درصد بیان شدند. سطح معنی داری ۰/۰۵ در نظر گرفته شد. فراوانی آللی و ژنوتیپی و ارتباط آلل ها و ژنوتیپ ها با بروز بیماری نیز به وسیله ی نرم افزار SPSS نسخه ۲۳ با آنالیزهای آماری پیروسون، کای دو و رگرسیون لجستیک تجزیه و تحلیل شدند.

یافته ها

در این تحقیق در کل ۲۰۰ نمونه شامل ۱۰۰ نمونه از بیماران مبتلا به سرطان پروستات و ۱۰۰ نمونه از افرادی که نتیجه نمونه برداری آنها در طی بررسی های پاتولوژیک منفی بود جمع آوری شدند، معیار انتخاب بیماران مبتلا به سرطان پروستات تشخیص این سرطان با کمک پزشک متخصص ارولوژی و تطست های تشخیصی بافت شناسی و مکمل است.

بیماران سرطانی بین سنین ۸۲-۴۱ با میانگین $\pm ۶۳/۲۱$ سال و افراد کنترل در همین طیف سنی با میانگین $\pm ۰/۹۰$ سال، بودند بر اساس گزارش پاتولوژی افراد بیمار ۴۷ نفر در STAGE I (۴۷٪) ۳۸ نفر در STAGE II (۳۸٪) ۷ نفر در STAGE III (۷٪) و ۸ نفر در STAGE IV (۸٪) قرار داشتند.

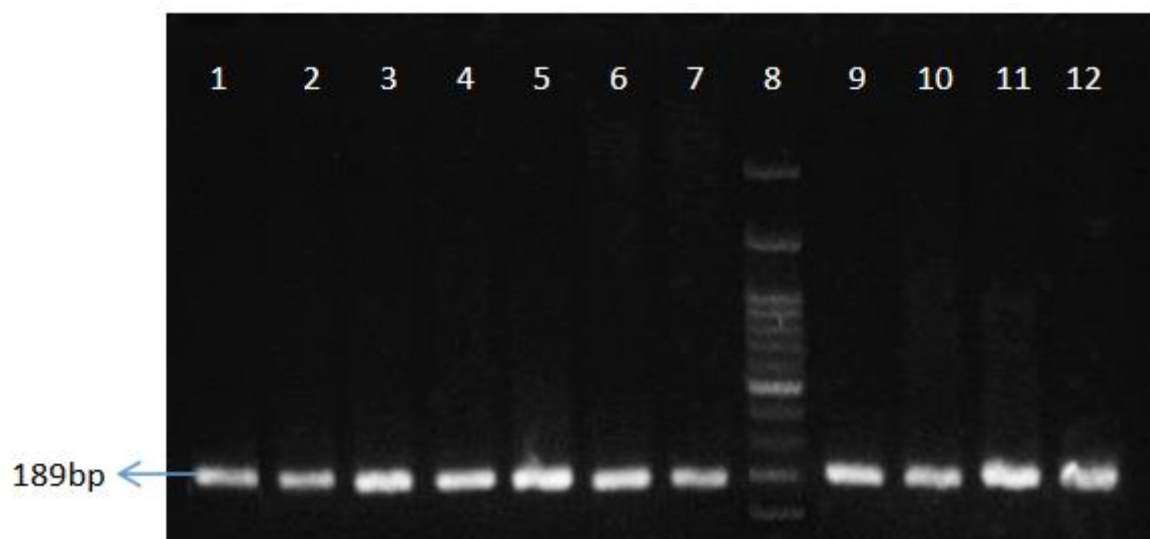
جدول ۳. مشخصات بالینی و آسیب شناختی مردان شرکت کننده در پژوهش

P value	طیف سنی یا میاتگین		محدوده	متغیر
	افراد سالم	افراد سرطانی		
۰/۰۱	$\pm ۰/۹۰$ ۵۵/۶۴	$۰/۹۹$ $\pm ۶۳/۲۱$	میاتگین طیف سنی	سن
۰/۰۳	$۲۳/۶۱ \pm ۰/۳۷$	$۲۴/۷۱ \pm ۰/۲۵$	میاتگین شاخص نوده بدنی	BMI (kg/m ²)
۰/۰۰۱	$۱۵/۱۶ \pm ۱/۱۰$	$۳۱/۳۸ \pm ۲/۹۶$	میاتگین غلظت سرمی	PSA total (nmol/L)
۰/۹۴۴	۳۲	۳۰	هرگز	سیگاری
	۳۹	۴۱	گهگاهی	
	۲۹	۲۹	مداوم	
		۴۷	درجه ۱	درجه سرطان
		۳۸	درجه ۲	
		۷	درجه ۳	
		۸	درجه ۴	
		۱۰	۴	درجه بندی گلیسون
		۱۵	۵	
		۱۲	۶	
		۳۷	۷	
		۱۹	۸	
		۷	۹	

بر اساس نتایج به دست آمده در جدول فوق اختلاف معنی دار در گروه ها متغیر سن مشاهده شد. به این معنا که با افزایش سن شانس بیشتری برای ابتلا به سرطان پروستات دارند. از طرفی PSA سرمی نیز با سرطان پروستات ارتباط داشته و با افزایش هریک از این دو احتمال به این سرطان افزایش می یابد.

در این پژوهش به منظور بررسی پلی مورفیسم RS139475791 نمونه گیری از بین مردان مراجعه کننده با رعایت مسائل اخلاقی رضایت افراد انجام شد.

نتایج حاصل از تکثیر نمونه های سرطانی و کنترل پلی مورفیسم RS139475791 نشان داد که با پرایمرهای اختصاصی قطعه مورد نظر تکثیر شد. نتایج PCR به وسیله الکتروفورز ژل آگارز ۲٪ تایید شد.



شکل ۱. تصویر ژل آگارز حاصل از تکثیر تعدادی از نمونه های سرطانی و کنترل:

چاهک ۱ تا ۷: نمونه های سرطانی تکثیر شده، چاهک ۹ تا ۱۲: نمونه های کنترل تکثیر شده، چاهک شماره ۸: لدر

ارتباط مرحله، درجه بندی گلیسیون و سایر متغیرها با ژنوتایپ های RS139475791 نشان داد که رابطه ژنوتایپ های CC/TC & CC/TT با مرحله سرطان و درجه بندی گلیسیون از نظر آماری مورد بررسی قرار گرفت. نتایج به صورت خلاصه در جدول ۴ آورده شده است.

جدول ۴. نشان دهنده رابطه بین ژنوتایپ ها، مرحله سرطان و درجه بندی گلیسیون RS139475791

Genotype		CC	p-value	TT	p-value	CT/TC	p-value
Stage	I	۲۰	۰/۸۶۵	۲۰	۰/۶۴۲	۷	۰/۸۶۶
	II	۱۶		۱۷		۵	
	III	۲		۴		۱	
	IV	۴		۲		۲	
Gleason Score	4	۴	۰/۹۲۵	۳	۰/۶۹۴	۱	۰/۴۴۱
	5	۲		۱		۲	
	6	۵		۳		۱	
	7	۱۹		۲۵		۶	
	8	۹		۸		۵	
	9	۳		۳		۰	

مقدار P-VALUE محاسبه شده نشان می‌دهد که هیچ‌کدام از ژنوتایپ‌ها با میزان پیشرفت سرطان و درجه گلیسیون رابطه آماری معنی‌داری مشاهده نشد. رابطه بین ژنوتایپ‌ها با سایر متغیرها مثل سن، مصرف سیگار و شاخص توده بدنی BM نیز مورد ارزیابی قرار گرفت.

جدول ۵. رابطه بین ژنوتایپ‌ها با سایر متغیرها

Variable		CC	P-value	TT	P-value	CT/TC	P-value
سن	۴۰-۵۰	۲۲	۰/۸۳۸	۱۴	۰/۷۹۱	۴	۰/۹۹۰
	۵۰-۶۰	۳۷		۲۰		۷	
	۶۰-۷۰	۳۲		۲۵		۷	
	۷۰-۸۰	۱۸		۱۰		۴	
شاخص توده بدنی	≥ 25	۷۲	۰/۹۸۶	۴۴	۰/۶۲۹	۱۶	۰/۴۸۰
	< 25	۳۷		۲۵		۶	
مصرف سیگار	همواره	۳۶	۰/۷۱۶	۲۳	۰/۸۴۹	۳	۰/۰۹۶
	گاهی	۴۱		۲۶		۱۳	
	هرگز	۳۲		۲۰		۶	

بحث و نتیجه گیری

فعال‌سازی نابجای سیگنال‌دهی گیرنده آندروژن (AR) یکی از دلایل اصلی است که سرطان پروستات مقاومت اختگی را به دست می‌آورد. بنابراین، پلی‌مورفیسم‌های موجود در ژن‌های مرتبط با مسیر AR ممکن است بر اثربخشی درمانی ADT اولیه از طریق تأثیرگذاری بر فعالیت سیگنال‌دهی AR تأثیر بگذارد. تا به امروز، ۶۳ SNP در ۴۹ ژن گزارش شده است که با نتیجه ADT اولیه برای HSPC مرتبط است (۱۰).

سنتز جدید آندروژن در سلول‌های سرطان پروستات منبع اصلی آندروژن تحت شرایط اخته در طول ADT است و نشان داده شده است که نقش مهمی در پیشرفت به CRPC دارد. مطالعات متعدد ارتباط SNP‌ها را در ژن‌های دخیل در متابولیسم آندروژن، از جمله CYP17A1، CYP19A1، HSD3B1، HSD17B2، HSD17B3، HSD17B4، AKR1C3 و SRD5A2 با نتیجه ADT نشان داده‌اند. به عنوان مثال، یک cSNP، rs1047303، A>C1245، N467T، در HSD3B1، که β -۳-هیدروکسی استروئید دهیدروژناز ۱ را کد می‌کند، منجر به گونه‌ای از ۳ HSD17B با فعالیت بالا می‌شود، و پیش‌آگهی ناقلان این گونه ضعیف است (۱۱-۱۳).

تأثیر پیش‌آگهی cSNP یا rs1047303 در HSD3B1 در ایالات متحده در یک گروه آسیایی تأیید شد، اگرچه حامل‌های متغیر در بیماران آسیایی در مقایسه با بیماران قفقازی نادر بودند (۱۴).

تأثیر پیش آگهی cSNP یا rs1047303 در HSD3B1 در ADT اولیه به همراه دوستاکسل برای HSPC تأیید شد (۱۵). علاوه بر این، تفاوت پیش آگهی توسط SNP دیگر، rs1856888، در HSD3B1 نیز نشان داده شد. راس و همکاران در ابتدا گزارش شد که نوع آلل G در rs1856888 با خطر کم پیشرفت بیماری در مردان در ایالات متحده مرتبط است. با این حال، یک مطالعه اخیر از ایالات متحده، پیش آگهی ضعیفی را در بیماران حامل آلل G در rs1856888 نشان داد. به دلیل عدم تعادل پیوندی قوی بین SNPs، rs1047303 و rs1856888، در HSD3B1، آلل متغیر موجود در SNPs، rs1047303 و rs1856888، در HSD3B1 احتمالاً با پیش آگهی بد در بیماران AD مرتبط است. در مطالعه ای بر روی SNP i، rs1870050، در CYP19A1، راس و همکاران. گزارش داد که نوع آلل C در rs1870050 با خطر بالای پیشرفت بیماری در مردان در ایالات متحده مرتبط است. با این حال، دو مطالعه اخیر خطر کم پیشرفت و پیش آگهی بهتری را در میان مردان آسیایی با آلل نوع C در rs1870050 نشان داد. علاوه بر این، اهمیت پیش آگهی rsSNP، rs743572، در منطقه ترجمه نشده ۵' CYP19A1 نشان داده شده است (۱۶).

همانطور که در بالا توضیح داده شد، ارتباط بین SNP های متعدد و اثرات درمانی دارویی برای سرطان پروستات گزارش شده است. با این حال، تا به امروز، هیچ نشانگر ژنتیکی از نظر بالینی در دارودرمانی سرطان پروستات استفاده نشده است، که نشان دهنده مشکلات بالقوه ای است که در ادامه توضیح داده شده است. در حالی که برخی از SNP ها در مطالعات اعتبار سنجی قابل تکرار بوده اند، برخی دیگر نتایج ثابتی را در سراسر مطالعات به همراه نداشته اند. این ممکن است به دلیل تفاوت های نژادی در فراوانی پلی مورفسم های ژنتیکی و عدم تعادل پیوندی (پدیده ای که در آن بین چندشکلی های ژنتیکی در یک جمعیت همبستگی وجود دارد) باشد. برای حل این مشکل، مطالعات متعدد با جمعیت زیاد و مطالعات متاآنالیز مورد نیاز است. علاوه بر این، پیشرفت های فناوری مانند هوش مصنوعی ممکن است به عنوان یک روش پیشرفت برای حل عدم تعادل پیوند پیچیده در بین افراد عمل کند (۱۷-۱۸).

مشکل دیگر این است که داده ها در اکثر گروه های مطالعه به صورت گذشته نگر در تمرین روزانه جمع آوری شده است. یک پیگیری بالینی روزانه به طور کلی انحرافات را از برنامه پیگیری دقیق در یک کارآزمایی بالینی نشان می دهد. برای بهبود کیفیت داده ها، جمع آوری داده های بالینی با استفاده از یک پروتکل سختگیرانه برای به دست آوردن یافته های قوی تر مطلوب است. علاوه بر این، بیشتر مطالعات تا به امروز بر روی چندشکلی های ژنتیکی هدف تک تک ژن ها متمرکز شده اند. از آنجا که این روش ممکن است SNP های مفید را از دست بدهد، روش های جامعی مانند GWAS مورد نیاز است. علاوه بر این، ممکن است یک نشانگر واحد برای توانایی پیش بینی دقیق کافی نباشد و ممکن است با استفاده از چندین SNP بر این امر غلبه شود GWAS. نشان داد که یک SNP منفرد به طور کلی تنها یک افزایش متوسط خطر ابتلا به سرطان پروستات را فراهم

می‌کند، جایی که امتیاز خطر چند ژنی (PGS) با استفاده از SNP های چندگانه خطر توسعه و تایید شده است. بنابراین، رویکرد PGS برای افزایش توانایی تشخیصی مفید خواهد بود (۲۰-۱۹).

علاوه بر این، ژن‌های SNP مرتبط با نتیجه درمانی می‌توانند علت مقاومت درمانی باشند. بنابراین، این ژن ها اهداف امیدوارکننده ای برای غلبه بر مقاومت درمانی هستند. ژن‌های دخیل در متابولیسم آندروژن مانند CYP17A1، HOX13، AKR1C3 و SRD5A2 اهداف نامزدی برای کشف دارو و توسعه دارو بوده‌اند و SNP ها ممکن است در اثربخشی درمانی بسیار مهم باشند.

منابع

۱. Shiota M, Eto M. Current status of primary pharmacotherapy and future perspectives toward upfront therapy for metastatic hormone-sensitive prostate cancer. *Int J Urol*. 2016;23(5):360-9.
۲. Moussa M, Papatsoris A, Abou Chakra M, et al. Pharmacotherapeutic strategies for castrate-resistant prostate cancer. *Expert Opin Pharmacother*. 2020;21(12):1431-48.
۳. Sathianathen NJ, Koschel S, Thangasamy IA, et al. Indirect comparisons of efficacy between combination approaches in metastatic hormone-sensitive prostate cancer: a systematic review and network meta-analysis. *Eur Urol*. 2020;77(3):365-72.
۴. Choudhury AD, Eeles R, Freedland SJ, et al. The role of genetic markers in the management of prostate cancer. *Eur Urol*. 2012;62(4):577-87.
۵. Hulshof EC, Deenen MJ, Guchelaar HJ, et al. Pre-therapeutic UGT1A1 genotyping to reduce the risk of irinotecan-induced severe toxicity: ready for prime time. *Eur J Cancer*. 2020;141:9-20.
۶. Kakuta Y, Kawai Y, Okamoto D, et al. NUDT15 codon 139 is the best pharmacogenetic marker for predicting thiopurine-induced severe adverse events in Japanese patients with inflammatory bowel disease: a multicenter study. *J Gastroenterol*. 2018;53(9):1065-78.
۷. Akamatsu S, Takata R, Haiman CA, et al. Common variants at 11q12, 10q26 and 3p11.2 are associated with prostate cancer susceptibility in Japanese. *Nat Genet*. 2012;44(4):426-9.
۸. Benafif S, Kote-Jarai Z, Eeles RA; PRACTICAL Consortium. A review of prostate cancer genome-wide association studies (GWAS). *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev*. 2018;27(8):845-57.

۹. Fujimoto N, Shiota M, Tomisaki I, et al. Gene polymorphism-related individual and interracial differences in the outcomes of androgen deprivation therapy for prostate cancer. *Clin Genitourin Cancer*. 2017;15(3):337-42.
۱۰. Fukagai T, Namiki TS, Carlile RG, et al. Comparison of the clinical outcome after hormonal therapy for prostate cancer between Japanese and Caucasian men. *BJU Int*. 2006;97(6):1190-3.
۱۱. Hemminki K, Ji J, Försti A, et al. Concordance of survival in family members with prostate cancer. *J Clin Oncol*. 2008;26(10):1705-9.
۱۲. Lévesque É, Huang SP, Audet-Walsh É, et al. Molecular markers in key steroidogenic pathways, circulating steroid levels, and prostate cancer progression. *Clin Cancer Res*. 2013;19(3):699-709.
۱۳. Hamada A, Danesi R, Price DK, et al. Association of a CYP17 polymorphism with overall survival in Caucasian patients with androgen-independent prostate cancer. *Urology*. 2007;70(2):217-20.
۱۴. Yamada T, Nakayama M, Shimizu T, et al. Genetic polymorphisms of CYP17A1 in steroidogenesis pathway are associated with risk of progression to castration-resistant prostate cancer in Japanese men receiving androgen deprivation therapy. *Int J Clin Oncol*. 2013;18(4):711-7.
۱۵. Ross RW, Oh WK, Xie W, et al. Inherited variation in the androgen pathway is associated with the efficacy of androgen-deprivation therapy in men with prostate cancer. *J Clin Oncol*. 2008;26(6):842-7.
۱۶. Shiota M, Fujimoto N, Tsukahara S, et al. The impact of genetic polymorphism on CYP19A1 in androgen-deprivation therapy among Japanese men. *Cancer Chemother Pharmacol*. 2019;83(5):933-8.
۱۷. Kanda S, Tsuchiya N, Narita S, et al. Effects of functional genetic polymorphisms in the CYP19A1 gene on prostate cancer risk and survival. *Int J Cancer*. 2015;136(1):74-82.
۱۸. Hearn JWD, AbuAli G, Reichard CA, et al. HSD3B1 and resistance to androgen-deprivation therapy in prostate cancer: a retrospective, multicohort study. *Lancet Oncol*. 2016;17(10):1435-44.
۱۹. Agarwal N, Hahn AW, Gill DM, et al. Independent validation of effect of HSD3B1 genotype on response to androgen-deprivation therapy in prostate cancer. *JAMA Oncol*. 2017;3(6):856-7.

۲۰. Hearn JWD, Xie W, Nakabayashi M, et al. Association of HSD3B1 genotype with response to androgen-deprivation therapy for biochemical recurrence after radiotherapy for localized prostate cancer. JAMA Oncol. 2018;4(4):558-62.