

## بررسی ارتباط چندشکلی تک نوکلئوتیدی A9194G واقع در اگزون ۴ ژن Survivin با خطر

### ابتلا به سرطان معده

زهرا باقری اصلی چوپری<sup>۱</sup>، پرینسا محمدی نژاد<sup>۱\*</sup>، محمد مهدی مغنی باشی منصوریه<sup>۲</sup>

۱- گروه زیست شناسی، دانشکده علوم پایه، دانشگاه آزاد اسلامی واحد شهرکرد، شهرکرد، ایران.

۲- گروه ژنتیک، دانشکده پزشکی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد کازرون، شیراز، ایران.

### چکیده

**سابقه و هدف:** سرطان معده چهارمین سرطان شایع و دومین علت مرگ و میر به دلیل سرطان در سراسر جهان می باشد. ژن Survivin با کد کردن یک پروتئین مهار کننده آپوپتوز، نقش مهمی در حفظ یکپارچگی مخاط معده داشته و برای عملکرد طبیعی معده لازم است. در سرطان معده، بیان این ژن به طور قابل توجهی افزایش می یابد. هدف از این مطالعه بررسی چند شکلی تک-نوکلئوتیدی A9194G (rs2071214) در اگزون ۴ ژن Survivin با خطر ابتلا به سرطان معده می باشد.

**مواد و روش ها:** در این مطالعه، ژنوتیپ چندشکلی مذکور در ۱۰۱ بیمار مبتلا به سرطان معده و ۱۰۱ فرد سالم از جمعیت عمومی که با بیماران از لحاظ سن و جنس همسان سازی شده بودند با تکنیک PCR-RFLP بررسی شد و با آزمون های آماری رگرسیون لجستیک و  $\chi^2$  آنالیز شد.

**یافته ها:** نتایج این مطالعه نشان داد هیچ یک از ژنوتیپ ها و آلل های چندشکلی A9194G با خطر ابتلا به سرطان معده در ارتباط نبوده است.

**نتیجه گیری:** نتایج به دست آمده در این پژوهش نشان داد که ژنوتیپ چندشکلی A9194G ژن Survivin با خطر ابتلا به سرطان معده ارتباط معنی داری ندارد.

**واژه های کلیدی:** ژن Survivin، مهار کننده آپوپتوز، سرطان معده، چندشکلی تک نوکلئوتیدی، rs2071214

### مقدمه

یافته) و منتشر (تمایز- نیافته) طبقه بندی گردیده است (۱۶). مکانیسم مولکولی دقیق سرطان معده نامشخص است و یک فرآیند پیچیده چند مرحله ای ناشی از کنش بین ژن ها و محیط در نظر گرفته می شود (۳۰). آلودگی با هلیکوباکتر پیلوری، رژیم غذایی و سیگار کشیدن از فاکتورهای اصلی محیطی مؤثر در ابتلا به سرطان معده هستند (۲۶، ۱۲، ۸).

یکی از ژن هایی که در انواع سرطان ها جهش می یابد ژن کد-کننده Survivin می باشد که یک پروتئین مهار کننده آپوپتوز را کد می کند که با مهار کاسپاز ۳ و کاسپاز ۷ فرآیند آپوپتوز جلوگیری می کند (۲۹، ۲۲، ۲۸، ۵۷). این ژن بر روی کروموزوم ۱۷q۲۵ واقع شده است و شامل ۴ اگزون و ۳ اینترون است (۱۵). علاوه بر این، با توجه به این که Survivin در فاز G2/M بیان می شود و با میکروتوبول های دوک میتوزی کنش دارد و در تنظیم چرخه سلولی نیز نقش دارد (۲۲، ۱۷، ۴، ۳).

در مخاط معده انسان، Survivin در سلول های اپی تلیال سطحی، سلول های اصلی و جداری معده بیان می شود و نقش

مطالعه های اپیدمیولوژیک سرطان معده نشان می دهد که این سرطان تنوع جغرافیایی گسترده ای داشته؛ به طوری که کشور-های آسیای شرقی، آمریکای جنوبی و مرکزی بیشترین شیوع سرطان معده و کشورهای هند، پاکستان، تایلند، شمال و غرب آفریقا و آمریکای شمالی کمترین شیوع را دارند (۱۰). بروز این سرطان در نواحی مختلف ایران نیز متفاوت است (۲۳، ۲۱، ۲۰). سرطان معده از نظر بافت شناسی به نوع روده ای (خوب تمایز

### نویسنده مسئول:

گروه زیست شناسی، دانشکده علوم پایه، دانشگاه آزاد اسلامی واحد شهرکرد

پست الکترونیکی: parisa\_mohamadynejad@yahoo.com

تاریخ دریافت: ۱۳۹۵/۷/۱۲

تاریخ پذیرش: ۱۳۹۶/۱/۲۸

دانمارک)، ۰/۶ میکرولیتر از هر جفت پرایمر (۵ pmol) و ۱/۵ میکرولیتر DNA ژنومی و ۷/۳ میکرولیتر آب دو بار تقطیر بود. تکنیک PCR طی مراحل دناتوراسیون اولیه در دمای ۹۴ درجه سانتی‌گراد به مدت ۱۰ دقیقه، ۳۰ سیکل (۹۴ °C) به مدت ۳۰ ثانیه، ۵۷°C به مدت ۳۰ ثانیه، ۷۲ °C به مدت ۳۰ دقیقه) و طویل سازی نهایی در دمای ۷۲ درجه سانتی‌گراد به مدت ۱۰ دقیقه بهینه شد. صحت انجام PCR با انجام الکتروفورز محصول‌های PCR بر روی ژل آگاروز یک درصد تأیید شد. سپس محصولات PCR توسط آنزیم محدودالایتر *SacII* (Thermo Scientific، ژاپن) و مطابق دستورالعمل کیت تیمار گردید. مواد لازم برای تیمار با آنزیم مذکور در حجم ۱۶ میکرولیتر شامل ۱۰ میکرولیتر آب مقطر، یک میکرولیتر 10X buffer B (Thermo Scientific، ژاپن)، یک میکرولیتر آنزیم *SacII* و ۴ میکرولیتر محصول PCR می‌باشد. محصول تیمار شده بر روی ژل آگاروز دو درصد الکتروفورز شد و بر اساس طول قطعه‌های حاصل از هضم آنزیمی ژنوتیپ هر نمونه تعیین گردید.

آنالیز نتایج حاصل از این پژوهش با استفاده از نرم افزار آماری SPSS 20.0 با آزمون‌های آماری رگرسیون لجستیک و  $\chi^2$  با سطح معنی داری کم‌تر از ۰/۰۵ انجام شد.

## نتایج

اطلاعات عمومی جمعیت مورد مطالعه در جدول ۱ نشان داده شده است.

محصول PCR ۲۳۰ bp طول دارد و نتایج به دست آمده از آنالیز PCR-RFLP به وسیله آنزیم *SacII* ایجاد دو قطعه ۲۰۶ و ۲۴ می‌نماید (شکل ۱).

در این مطالعه مورد- شاهدی ارتباط چندشکلی A9194G واقع در اگزون ۴ ژن Survivin با خطر ابتلا به سرطان معده مورد بررسی قرار گرفت.

مهمی در حفظ یکپارچگی مخاط معده و تجدید سلول‌های تنظیمی در مخاط معده دارد و بیان آن در سرطان معده افزایش پیدا می‌کند (۱۹، ۶). بیان بیش از حد Survivin در مقایسه با بافت‌های طبیعی، در تومورهای ریه، سینه، روده بزرگ، معده، مری، لوزالمعده، مثانه، رحم، تخمدان‌ها، لنفوم- غیرهوچکین، لوکمیا، نوروبلاستوما، ملانوم و سرطان پوست غیرملانومی نیز گزارش شده است (۲۷، ۲۲، ۱۴، ۳، ۱). چند شکلی‌های تک‌نوکلئوتیدی (SNP) یکی از انواع چند شکلی‌ها می‌باشد که در سراسر توالی ژنوم یافت می‌شود. SNP های ناحیه رمز گذار ژن می‌تواند منجر به تغییرهایی در خواص بیولوژیکی پروتئین‌ها شود (۱۳).

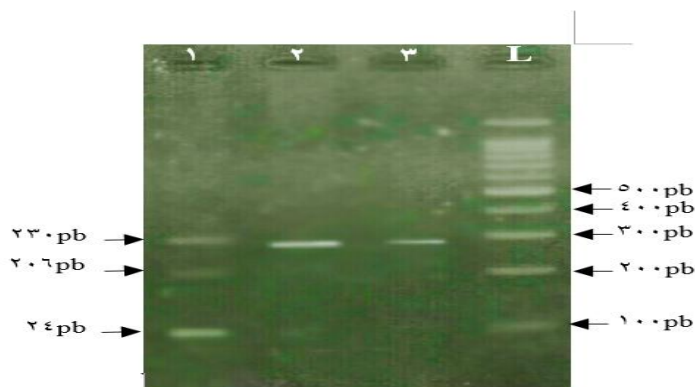
یک چندشکلی شایع در اگزون ۴ ژن Survivin، چندشکلی A9194G است (۲۵). A9194G منجر به تغییر اسید آمینه گلوتامیک اسید به لیزین در کدون ۱۲۹ در اگزون ۴ می‌شود، که در انتهای کربوکسیل پروتئین قرار دارد اما نقش بیولوژیکی تغییرهای اسید آمینه مرتبط با A9194G SNP هنوز روشن نشده است (۲۵).

با توجه به نقش ژن Survivin در سرطان‌ها و ارتباط چند شکلی A9194G با خطر ابتلا به سرطان‌های ریه (۱۱) و مثانه (۲۵) در این مطالعه برای اولین بار ارتباط چندشکلی مورد اشاره با سرطان معده مورد بررسی قرار می‌گیرد.

## مواد و روش‌ها

DNA ژنومی از نمونه خون ۱۰۱ بیمار مبتلا به سرطان معده و ۱۰۱ فرد سالم به عنوان گروه شاهد از جمعیت عمومی از لحاظ سن (۵ ± سال) و جنس همسان سازی شده بودند به روش استاندارد رسوب نمکی استخراج گردید (۲۴). پس از طراحی پرایمر برای ناحیه مورد نظر، با روش PCR-RFLP ژنوتیپ‌های نمونه‌ها مشخص گردید. توالی پرایمر رفت، 5′- GC-3′ GAAGAAAGAATTTGAGGAAACC و توالی برگشت، 5′-CAAGACAAAACAA GACAG-3′ می‌باشد.

مواد لازم برای واکنش PCR در حجم ۱۵ میکرولیتر، شامل ۵ میکرولیتر (۲ X) Taq Master Mix (AMOLIQON،



شکل ۱: نتایج الکتروفورز محصول های PCR پس از RFLP برای چندشکلی A9194G.

حضور باند ۲۳۰ bp نمایانگر ژنوتیپ AA (چاهک ۲ و ۳)، حضور باندهای ۲۴/ ۲۰۶ bp نمایانگر ژنوتیپ GG (این ژنوتیپ در جمعیت مورد مطالعه مشاهده نشده است). و حضور باندهای ۲۴/ ۲۰۶/۲۳۰ pb نمایانگر ژنوتیپ AG (چاهک ۱) می باشد L: 100bp DNA ladder (سیناژن، ایران).

سرطان معده در ارتباط نبوده است (جدول ۲). هم چنین هیچ یک از ژنوتیپ های چندشکلی A9194G با خطر ابتلا به نوع سرطان معده (Diffuse و Intestinal) در ارتباط نبوده است (جدول ۳). ( $P=0/51$ )

همان طور که در جدول ۲ مشاهده می شود بیشترین فراوانی آللی مربوط به آلل A و بیشترین فراوانی ژنوتیپی مربوط به ژنوتیپ AA می باشد. فراوانی ژنوتیپی در جمعیت بیمار و کنترل در تعادل هاردی واینبرگ بود.

نتایج این مطالعه نشان داد که هیچ یک از ژنوتیپها ( $P=0/27$ ) و آلل های ( $P=0/28$ ) چندشکلی A9194G با خطر ابتلا به

جدول ۱ - مشخصه های جمعیت مورد مطالعه

مشخصات	گروه کنترل	گروه بیمار
تعداد نمونه ها	۱۰۱	۱۰۱
جنسیت		
مرد	۶۷	۶۷
زن	۳۴	۳۴
سن (سال)		
دامنه سنی	۳۳-۸۹	۲۶-۸۵
میانگین سن $\pm$ انحراف معیار	$58/30 \pm 11/60$	$58/59 \pm 12/30$
مرد	$57/68 \pm 11/61$	$59/77 \pm 11/42$
زن	$59/52 \pm 11/67$	$55/04 \pm 14/35$
تعداد افراد مبتلا به هلیکوباکترپیلوری	۰	۲۸
نوع سرطان معده*		
Intestinal	۰	۳۷
Diffuse	۰	۱۷
تعداد افراد مبتلا به زخم معده	۰	۳۱

\* فرم پرسش نامه

افراد بیمار، نوع سرطان معده (Diffuse, Intestinal) تمام افراد مشخص نشده است و به عنوان missing در آنالیز داده ها در نظر گرفته شده است (۴۷ نفر از افراد بیمار به عنوان missing در نظر گرفته شده است).

جدول ۲- ارتباط ژنوتیپی و آللی چندشکلی A9194G اگزون ۴ ژن Survivin در جمعیت زنان و مردان با خطر ابتلا به سرطان معده.

ژنوتیپ	گروه کنترل n= ۱۰۱		گروه بیمار n= ۱۰۱		aOR	۹۵% CI	pValue
	فرانس	رفرنس	فرانس	رفرنس			
پلی مورفیسم A9194G							
AA	۹۶ (۰/۹۵)	۹۲ (۰/۹۱)	۱/۸۷	۱/۸۷			
AG	۵ (۰/۰۵)	۹ (۰/۰۹)	۰/۳۷	۰/۳۷		(۰/۶۰-۵/۸۱)	۰/۳۷
GG	۰ (۰)	۰ (۰)	-	-		-	-
جمعیت زنان							
AA	۳۲ (۰/۹۴)	۳۱ (۰/۹۴)	۱/۰۳	۱/۰۳			
AG	۲ (۰/۰۶)	۲ (۰/۰۶)	۰/۹۷	۰/۹۷		(۰/۱۳-۷/۷۹)	۰/۹۷
GG	۰ (۰)	۰ (۰)	-	-		-	-
جمعیت مردان							
AA	۶۴ (۰/۹۵۵)	۶۱ (۰/۹)	۲/۴۴	۲/۴۴			
AG	۳ (۰/۰۴۵)	۷ (۰/۱)	۰/۲۰	۰/۲۰		(۰/۶۰-۹/۹۰)	۰/۲۰
GG	۰ (۰)	۰ (۰)	-	-		-	-
ارتباط آللی							
A	۱۹۳ (۰/۹۵۵)	۱۹۷ (۰/۹۷۵)	۱/۸۳	۱/۸۳			
G	۹ (۰/۰۴۵)	۵ (۰/۰۲۵)	۰/۲۸	۰/۲۸		(۰/۶۰-۵/۵۸)	۰/۲۸

جدول ۳- ارتباط ژنوتیپی چندشکلی A9194G ژن Survivin با نوع سرطان معده (Diffuse و Intestinal) در جمعیت زنان و مردان

ژنوتیپ	Intestinal	Diffuse	Aor	۹۵% CI	pValue
AA	۳۰	۷	رفرنس		
AG	۱۵	۲	۰/۷۱	۰/۱۰-۳/۰۹	۰/۵۱
GG	۰	۰	-	-	-
جمعیت زنان					
AA	۷	۸	رفرنس		
AG	۱	۱	۰/۸۷	۰/۰۴-۱۶/۷۴	۰/۹۲
GG	۰	۰	-	-	-
جمعیت مردان					
AA	۷	۲۱	رفرنس		
AG	۱	۸	۲/۶۶	۰/۲۸-۲۵/۲۴	۰/۳۹
GG	۰	۰	-	-	-

## بحث

افزایش بیان Survivin در چندین نوع سرطان از جمله ریه، سینه، روده بزرگ، معده، مری، لوزالمعده، مثانه، رحم، تخمدانها، لنفوم- غیرهوچکین، لوکمیا، نوروبلاستوما، ملانوم و سرطان پوست غیرملانومی گزارش شده است (۲۷، ۲۲، ۱۴، ۳، ۱). به نظر می رسد که چندشکلی های ژن Survivin با اثر بر تولید و یا فعالیت این پروتئین، استعداد ابتلا به سرطان های مختلف را تحت تأثیر قرار می دهد (۱۱).

در ناحیه کدکننده این ژن نیز، چندین SNP گزارش شده است که یکی از این چندشکلی ها A9194G (rs2071214) است (۲۵). A9194G منجر به تغییر اسید آمینه گلوتامیک

Survivin یک پروتئین سیتوپلاسمی KD ۱۶/۵ و عضو خانواده پروتئین های مهارکننده آپوپتوز (IAP) می باشد و در تنظیم چرخه سلولی و مهار مسیر آپوپتوز نقش دارند (۲۹، ۲۸، ۲۲، ۷، ۵). به همین دلیل نقش مهمی در رشد و پیشرفت سرطان ایفا می کند (۱۱). Survivin به فراوانی در بافت های جنینی و رویانی بیان می شود اما در اکثر بافت های بالغ یا بیان نمی شود یا بیان آن کم است (۱۸، ۱۹، ۱۴، ۹، ۳، ۲).

یا به دلیل تعداد کم نمونه‌های مورد مطالعه می‌باشد و یا این که این چندشکلی در فرآیند سرطان‌زایی معده نقش ندارد.

### پیشنهادات

با توجه به نتایجی که در این مطالعه به دست آمد، پیشنهاد می‌شود که برای بررسی ارتباط چندشکلی A9194G در ژن Survivin با خطر ابتلا به سرطان معده، در جمعیت‌های متفاوت و با تعداد نمونه‌های بیش‌تری استفاده گردد. هم‌چنین نقش عملکردی چندشکلی A9194G مشخص شود.

### سپاسگزاری

در پایان لازم می‌دانیم از پرسنل بیمارستان امید اصفهان و تمامی افراد شرکت‌کننده در این مطالعه که در جمع‌آوری نمونه‌ها ما را یاری نمودند نهایت امتنان و سپاسگزاری را داشته باشیم.

اسید به لیزین در کدون ۱۲۹ در اگزون ۴ می‌شود، که در انتهای کربوکسیل پروتئین قرار دارد اما نقش بیولوژیکی تغییرات اسید آمینه مرتبط با A9194G SNP هنوز روشن نشده است (۲۵).

چندشکلی A9194G در دو سرطان، مثانه و ریه مورد بررسی قرار گرفته است. نتایج مطالعه Jin Sung Jang و همکارانش در سال ۲۰۰۸ نشان داد که ژنوتیپ GG در مقایسه با ژنوتیپ AG+AA خطر ابتلا به سرطان ریه نوع آدنوکارسینوما را افزایش می‌دهد ( $P=0/04$ ) و پیشنهاد کردند ممکن است چند-شکلی‌های ژن کد کننده Survivin مارکرهای خوبی برای تعیین استعداد ابتلا به آدنوکارسینوما باشد (۱۱). از طرف دیگر Kawata Naoko و همکارانش در سال ۲۰۱۱ نشان دادند در سرطان مثانه، آلل G و ژنوتیپ‌های AG+GG خطر ابتلا به سرطان مثانه را کاهش می‌دهد و پیشنهاد شده است که آلل G با کاهش بیان ژن Survivin از مهار آپوپتوز جلوگیری می‌کند (۲۵).

در این مطالعه ارتباط چندشکلی A9194G (rs2071214) در اگزون ۴ ژن Survivin با خطر ابتلا به سرطان معده در مبتلایان به سرطان معده در استان اصفهان مورد ارزیابی قرار گرفته است.

نتایج مطالعه حاضر نشان داد که بین انواع ژنوتیپ‌های این چندشکلی و خطر ابتلا به سرطان معده رابطه‌ی معنی‌داری وجود ندارد.

به نظر می‌رسد نتایج حاصل از بررسی این چندشکلی در جمعیت‌های مختلف و سرطان‌های متنوع، متفاوت باشد.

لازم به ذکر است که فراوانی واریانت A9194G در اروپا، آسیا، آفریقا و آمریکا به ترتیب ۰/۰۲۱، ۰/۲۲۹ و ۰/۰۲۲ گزارش شده است (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov>). این در حالیست که در مطالعه حاضر فراوانی A9194G ۰/۹۵۵ می‌باشد که می‌توان آن را به تفاوت‌های نژادی نسبت داد.

### نتیجه‌گیری

با توجه به ارتباط معنی‌دار چندشکلی A9194G با خطر ابتلا به سرطان مثانه و عدم ارتباط آن با سرطان ریه، عدم ارتباط چندشکلی فوق با خطر ابتلا به سرطان معده در مطالعه حاضر

## منابع

1. Adida C, Berrebi D, Peuchmaur M, Reyes-Mugica M, et al. Antiapoptosis gene, survivin, and prognosis of neuroblastoma. *Lancet*. 1998; 351:882 – 883.
2. Adida C, Crotty PL, McGrath J, Berrebi D, et al. anti-poptosis gene survivin in human and mouse differentiation. *Am J Pathol*. 1998; 152(1):43.–49.
3. Altieri DC. The molecular basis and potential role of survivin in cancer diagnosis and therapy. *Trends Mol Med*. 2001; 7:542-547.
4. Ambrosini G, Adida C, Altieri DC. A novel anti-apoptosis gene, survivin expressed in cancer and lymphoma. *Nat Med*. 1997; 3: 917–926.
5. Borbe'ly AA, Murvai M, Szarka K, Ko'nya J, et al. Survivin promoter polymorphism and cervical carcinogenesis. *J Clin Pathol*. 2007; 60:303–306.
6. Chiou SK, Moon WS, Jones MK, Tarnawski AS. Survivin expression in the stomach: implications for mucosal integrity and protection. *Biochem Biophys Res Commun*. 2003; 305: 374–379.
7. Deveraux QL, Reed JC. IAP family proteins—suppressors of apoptosis. *Genes Dev*. 1999; 13:239-252.
8. Freedman ND, Abnet CC, Leitzmann MF, Mouw T, et al. A prospective study of tobacco, alcohol, and the risk of esophageal and gastric cancer subtypes. *Am J Epidemiol*. 2007; 165:1424–33.
9. Fukuda S, Pelus LM. Survivin, a cancer target with an emerging role in normal adult tissues. *Mol Cancer Ther*. 2006; 5:1087– 1098.
10. He J, Gu D, Wu X, et al. Major causes of death among men, women in China. *N Engl J Med*. 2005; 353:1124–1134.
11. Jang JS, Kim KM, Kang KH, Choi JE, et al. Polymorphisms in the survivin gene and the risk of lung cancer. *Lung Cancer*. 2008; 60:31–9.
12. Kamangar F, Sheikhattari P, Mohebtash M. Helicobacter pylori and its effects on human health and disease. *Arch Iran Med*. 2011; 14:192–9.
13. Kim BC, Kim WY, Park D, Chung WH, et al. SNPs Promoter: a database of human SNPs (single nucleotide polymorphisms) within the putative promoter regions. *BMC Bioinformatics*. 2008; 9(1): S2.
14. Krieg A, Mahotka C, Krieg T, Grabsch H. Expression of different survivin variants in gastric carcinomas: first clues to a role of survivin-2B in tumour progression. *British Journal of Cancer*. 2002; 86, 737 – 743.
15. Kshitij Sr, Anvesha Sr, Balraj M. Survivin promoter -31G/C (rs9904341) polymorphism and cancer susceptibility: a meta-analysis. *Mol Biol Rep*. 2012; 39:1509–1516.
16. Lauren P. The two histological main types of gastric carcinoma: diffuse and so-called intestinal-type carcinoma. an attempt at a histo-clinical classification. *Acta Pathol Microbiol Scand*. 1965; 64:31–49.
17. Li F, Ambrosini G, Chu EY, et al. Control of apoptosis and mitotic spindle checkpoint by survivin. *Nature*. 1998; 396:580-584.
18. Li F, Brattain MG. Role of the Survivin gene in pathophysiology. *Am J Pathol*. 2006; 169:1–11.
19. Li Yang, Huaijun Zhu, Bo Zhou, Haijuan Gu. The Association Between the Survivin C-31G Polymorphism and Gastric Cancer Risk in a Chinese Population. *Dig Dis Sci*. 2009; 54:1021–1028.
20. Malekzadeh R, Derakhshan MH, Malekzadeh Z. Gastric Cancer in Iran: Epidemiology and Risk Factors. *Arch Iran Med*. 2009; 12(6): 576-583.
21. Malekzadeh R, Sotoudeh M, Derakhshan M H, Mikaeli J, et al. Prevalence of gastric precancerous lesions in Ardabil, a high incidence province for gastric adenocarcinoma in the northwest of Iran. *J Clin Pathol*. 2004; 57: 37-42.
22. Maria G, Nikolaos T, George R, et al. Survivin -31G/C promoter polymorphism and sporadic colorectal cancer. *Int J Colorectal Dis* 2009; 24:145-150.

23. Mashhadi MA, Nezam K, Abdollahnejad MJ. Gastric cancer in south East of Iran. *IJHOSCR*. 2009; 3(4): 38-42.
24. Miller, S., Dykes, D., Polesky, H. A simple salting out procedure for extracting DNA from human nucleated cells. *Nucleic Acids Rrs*. 1998; 16, 1215.
25. Naoko K, Norihiko T, Yohei H, Takamitsu I. Two survivin polymorphisms are cooperatively associated with bladder cancer susceptibility. *International Journal of Cancer*. 2011; 1872-1880 .
26. Parsonnet J, Chang Y. Helicobacter pylori infection in intestinal\_and diffuse\_type gastric enocarcinomas *J Nat Cancer Inst*. 1991; 83:640 643.
27. Sui L, Dong Y, Ohno M, Watanabe Y, Sugimoto K, Tokuda M. Survivin xpression and its correlation with cell prolifer-ation and prognosis in epithelial ovarian tumors. *Int J Oncol* .2002; 21(2):315-320.
28. Tamm I, Wang Y, Sausville E, Scudiero DA, et al. IAP-family protein survivin inhibits caspase activity and apoptosis induced by Fas (CD95), Bax, caspases, and anticancer drugs. *Cancer Res*. 1998; 58: 5315 – 5320.
29. Wenzel M, Mahotka C, Krieg A, Bachmann A, et al. Novel survivin-related members of the inhibitor of apoptosis (IAP) family [letter]. *Cell Death Differ*. 2000; 7: 682 – 683.
30. Wu MS, Chen CJ, Lin JT. Host-environment interactions: their impact on progression from gastric inflammation to carcinogenesis and on development of new approaches to prevent and treat gastric cancer. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev*. 2005; 14: 1878-1882.

