

The association between *RNASEL* R462Q polymorphism and prostate cancer

Rezaee M.A., MSc^{1,2}, Hossaini W., BS³, Nikkhoo B., MD⁴, Khodabandehloo M., PhD^{5,6}, Rahmani M.R., PhD^{7,8}

1. Instructor, Zoonoses Research center, Kurdistan University of Medical Sciences, Sanandaj, Iran.
2. Instructor, Department of Medical Laboratory Sciences, Faculty of Paramedical, Kurdistan University of Medical Sciences, Sanandaj, Iran.
3. BSc, Department of Immunology and Hematology, Faculty of Medicine, Kurdistan University of Medical Sciences, Sanandaj, Iran.
4. Associate Professor, Department of Pathology, Faculty of Medicine, Kurdistan University of Medical Sciences, Sanandaj, Iran.
5. Associate Professor, Cellular and Molecular Research Center, Kurdistan University of Medical Sciences, Sanandaj, Iran.
6. Associate Professor, Department of Microbiology, Faculty of Medicine, Kurdistan University of Medical Sciences, Sanandaj, Iran.
7. Associate Professor, Zoonoses Research center, Kurdistan University of Medical Sciences, Sanandaj, Iran.
8. Associate Professor, Department of Immunology and Hematology, Faculty of Medicine, Kurdistan University of Medical Sciences, Sanandaj, Iran. (Corresponding Author), Tel:+98-87-33664674, rahmany191@gmail.com

ABSTRACT

Background and Aim: RNase L is a cytoplasmic enzyme of the innate immune system that destroys RNA viruses and also plays an important role in the apoptosis of different cells. The association of ribonuclease L (*RNASEL*) gene polymorphisms with susceptibility to prostate cancer in different populations has been reported. In this study, the association of RNase L R462Q single nucleotide polymorphism (SNP) and prostate cancer was investigated in Sanandaj City in Iran.

Material and Methods: This case-control study included 61 men with confirmed prostate cancer as our case group and 101 men with benign prostatic hyperplasia (BPH) as control group. The genomic DNA from prostate tissue samples were obtained from both groups and were embedded in paraffin blocks. The prevalence of the polymorphism of *RNASEL* gene in R462Q location was determined by using Amplification-Refractory Mutation System PCR (ARMS-PCR). Data were analyzed by chi-square test.

Results: The mean age was 70.12 ± 13.37 years for the patients with cancer and 71.05 ± 9.26 years for the control group ($P=0.6$). The frequencies of GG and GA genotypes in the two groups were not different significantly ($p>0.05$). The frequencies of AA genotype in the patients with cancer and control group were 18.03% and 5.94% respectively ($p=0.02$, OR=3.48, CI: 1.46-15.2).

Conclusion: The results of this study indicated that AA genotype polymorphism of *RNASEL* gene in R462Q location was associated with increased susceptibility to prostate cancer.

Keywords: *RNASEL*, R462Q, Polymorphism, Prostate cancer, Benign Prostatic Hyperplasia.

Received: Oct 23, 2016 **Accepted:** Feb 6, 2017

مقدمه

سرطان پروستات دومین سرطان شایع در بین مردان دنیاست و در کشور های توسعه یافته شایع ترین نوع سرطان می باشد (۱). عوامل ژنتیکی و محیطی از عوامل خطر برای ابتلا به سرطان پروستات هستند. ژن های مختلفی با استعداد ابتلا به سرطان پروستات مرتبط هستند اما ارتباط سه ژن *ELAC2*، *RNASEL* و *MSR1* با استعداد ابتلا به این سرطان مهم تر هستند (۲ و ۳).

RNase L از آنزیم های ایمنی ذاتی است که در نتیجه تولید اینترفرون ها فعال می شود (۴). تکثیر ویروس ها در بیشتر مهره داران با اینترفرون ها مهار می شود، اینترفرون ها بیان ژن های کد کننده پروتئین های ضد ویروسی مانند oligoadenylate synthetases (OAS) 2'-5' را افزایش می دهند، این پروتئین باعث تولید 5'-phosphorylate و 5'-linked 2', oligoadenylates (2-5A) می شود. ATP از *RNase L* آنزیم غیرفعال *RNase L* را فعال می کند. فعال، RNA های ویروسی و سلولی را تخریب کرده و میزان آنها را کاهش داده که منجر به مهار تکثیر ویروس می شود (۵). در موش های *RNASEL*^{-/-} استعداد ابتلا به انواع عفونت های ویروسی در مقایسه با موش هایی وحشی بیشتر است (۶). همچنین *RNase L* با آزادسازی سیتوکروم C از میتوکندری ها به همراه کاسپاز ۳ در القا آپوپتوزیس سلول ها نقش دارد (۷). تغییرات ژنتیکی در *RNASEL* می تواند آپوپتوز سلول ها را مختل کند که این امر می تواند با ابتلا به سرطان پروستات مرتبط باشد (۸). افرادی که پلی مورفیسم تک نوکلئوتیدی (Single Nucleotide polymorphism (SNP)،

(1358G>A;R462Q)missense ژن *RNASEL* را دارند، پروتئین تولیدی به میزان ۳ برابر در مقایسه با آنزیم وحشی در عملکرد کاتالیزی کاهش دارد. این پلی مورفیسم

در قسمتی از ژن قرار داشته که ناحیه شبه کینازی پروتئین را کد می کند و در دوتایی شدن آنزیم برای تبدیل شدن به فرم فعال آنزیم تداخل ایجاد می کند (۹). افراد هتروزیگوت *GA* و هموزیگوت *AA* چند برابر بیشتر، شانس ابتلا به سرطان پروستات را دارند (۱۱ و ۱۰ و ۸). از سوی دیگر در بعضی جمعیت ها ارتباط معنی داری بین پلی مورفیسم *R462Q* با ابتلا به سرطان پروستات نشان داده نشده است (۱۴-۱۲).

پلی مورفیسم های ژن *RNASEL* با ابتلا به سرطان های دیگر نیز مرتبط است. پلی مورفیسم جایگاه *RNase L* *R462Q* با افزایش شانس ابتلا به سرطان پانکراس، ارتباط دارد (۱۵). پلی مورفیسم های ژن *RNASEL* از جمله جایگاه rs3738579 با ابتلا به سرطان های گردن رحم و سینه مرتبط هستند. حضور ژنوم پاپیلوما ویروس در بافت سرطانی بیماران با سرطان گردن رحم ارتباط پلی مورفیسم هایی که موجب کاهش بیان آنزیم *RNase L* می شوند، را مطرح نمود (۱۶).

بررسی ارتباط پلی مورفیسم های ژن *RNASEL* با ابتلا به سرطان های مختلف، بخصوص سرطان پروستات در جمعیت های مختلف، با توجه به تفاوت های ژنتیکی حائز اهمیت است و تاکنون از غرب ایران مطالعه ای گزارش نشده است. شناخت ارتباط ژنتیک بیماران با ابتلا به سرطان به درک بهتر عوامل موثر بر سرطان کمک شایانی می کند. لذا هدف از این مطالعه بررسی ارتباط پلی مورفیسم *RNASEL* در جایگاه *R462Q* در بیماران با سرطان پروستات در مقایسه با بیماران گروه کنترل هایپرپلازی خوش خیم پروستات (BPH) در سنجندج است.

روش بررسی

بیماران و نمونه گیری:

در این مطالعه مورد-شاهدی گذشته نگر، نمونه های سرطان پروستات در بخش پاتولوژی بیمارستان توحید سنج بررسی شد و تمام نمونه های سرطانی در دسترس که شامل ۶۱ نمونه بود، به عنوان گروه مورد انتخاب شد. این نمونه ها مربوط به سال های ۱۳۹۱-۱۳۹۳ بود. نمونه های بافتی گرفته شده از بافت پروستات در بلوک های پارافین قرار داشت. از نمونه ها برش بافتی تهیه و رنگ آمیزی هماتوکسیلین-اؤزین انجام شده و توسط پاتولوژیست بررسی و وجود بافت سرطانی و درجه بدخیمی مشخص شده بود. نمونه هایی که اندازه بافت پروستات برای استخراج DNA کافی نبود از مطالعه حذف شدند.

نمونه کنترل شامل نمونه های بافتی پروستات از ۱۰۱ مرد با هایپرپلازی خوش خیم پروستات (BPH) بود که از نظر سنی با گروه مورد مطابقت داده شد. نمونه های Transurethral resection of the prostate (TURP) این بیماران نیز در بلوک های پارافین قرار داشت. با دستگاه میکروتوم برش های بافتی تهیه و برای تشخیص بافتی هیستوپاتولوژی و همچنین استخراج DNA استفاده شد. نمونه هایی که میزان بافت پروستات برای استخراج DNA کافی نبود از مطالعه حذف شدند.

استخراج DNA:

از نمونه های بافتی بیماران سرطانی و BPH که در بلوک های پارافینه قرار داشت، برش هایی به ضخامت ۱۰ میکرون تهیه و پس از پارافین زدایی، با استفاده از کیت (Genet bio, Korea) DNA بافت طبق روش کار کیت استخراج شد. پس از استخراج DNA با اسپکترومتر غلظت DNA اندازه گیری و برای تایید کیفیت DNA استخراج شده، DNA در ژل آگارز ۱% الکتروفورز شد. DNA

استخراج شده تا زمان انجام آزمایش PCR در فریزر ۲۰- درجه سانتی گراد نگهداری شد.

PCR و الکتروفورز: SNP ژن *RNASEL* در جایگاه R462Q با روش Amplification-Refractory Mutation System (ARMS) بررسی شد. با این روش می توان بر اساس پرایمرهای اختصاصی، SNP را تشخیص داد. سه پرایمر شامل دو پرایمر Forward که در انتهای 3' تنها در یک نوکلوتید تفاوت داشتند و یک پرایمر مشترک Reverse طراحی شد (جدول ۱). برای هر نمونه با پرایمرها دو PCR جداگانه برای تمام نمونه های بیماران گروه سرطانی و BPH انجام شد. واکنش PCR در حجم ۲۵ میکرولیتر با 2X PCR Master mix (پارس توس، ایران) که حاوی $dNTP$ ، $MgCl_2$ ، $DNA\ taq$ ، $polymerase$ و بافر Tris-HCl بود و $10\ pmol/\mu l$ از هر کدام پرایمرهای اختصاصی در حجم $1\ \mu l$ و $100\ ng$ DNA الگو طبق برنامه: دناچوراسیون ۳۰ ثانیه در ۹۴ درجه سانتی گراد، اتصال پرایمر (Annealing) ۳۰ ثانیه در ۶۰ درجه سانتی گراد و پلیمریزاسیون ۴۵ ثانیه در ۷۲ درجه سانتی گراد، انجام شد. محصولات PCR در آگارز ۲% الکتروفورز شد. برای کنترل کارکرد PCR از پرایمرهای طراحی شده F: 5-GCG TTA CAC CCT TTC و R: 5-TTG TGA ACT TTG و TTTG AC-3 GGG GAT GC-3 برای ردیابی ژن β -actin استفاده شد.

آنالیز آماری:

داده ها وارد نرم افزار SPSS 12 شده و با استفاده از آزمون آماری t ، میانگین سن بیماران سرطانی با گروه BPH مقایسه شد. برای مقایسه فراوانی ژنوتیپ ها در دو گروه آزمون آماری کای دو، انجام شد.

جدول ۱. توالی پرایمرهای استفاده شده برای بررسی پلی مورفیسم ژن *RNASEL* در جایگاه R462Q.

نوع پرایمر	توالی	اندازه محصول PCR (جفت باز)
<i>RNASEL</i> forward 1	F: 5-GAGGAAGATGAATTTGCCCG-3	404 bp
<i>RNASEL</i> forward 2	F: 5-GAGGAAGATGAATTTGCCCA-3	
<i>RNASEL</i> Reverse	R: 5-GAGCTACTTTGATCCATGAC-3	

یافته ها

پس از انجام PCR و الکتروفورز ژنوتیپ های جایگاه R462Q ژن *RNASEL* به دست آمد (جدول ۲). فراوانی ژنوتیپ های GG و GA در بیماران با سرطان پروستات نسبت به مردان گروه کنترل BPH تفاوت معناداری را نشان نداد ($P>0.05$). فراوانی ژنوتیپ AA در گروه سرطان پروستات نسبت به گروه کنترل افزایش معنی داری را نشان داد ($P=0.02$, $OR=3.48$, $CI: 1.46-15.2$). این نتایج نشان می دهد افرادی که ژنوتیپ AA را در ژن *RNASEL* در جایگاه R462Q دارند ۳/۴۸ برابر شانس خطر بیشتری برای ابتلا به سرطان پروستات را دارند.

سن بیماران در هر دو گروه توزیع نرمال داشت. میانگین سن بیماران سرطانی $70/12 \pm 13/37$ سال و میانگین سن گروه کنترل $71/05 \pm 9/26$ سال بود. سن دو گروه باهم تفاوت معنی دار نداشتند ($P=0/60$). نمونه های بافتی پروستات که از بیماران سرطانی گرفته شده بود، ۳/۲٪ به روش TUR-P، ۵/۲٪ تکه بافتی پروستاتکتومی و ۵/۶٪ بیوپسی از بافت پروستات بود. میانگین Grade تومور بیماران $5/41 \pm 1/86$ بود که ۴ بیشترین فراوانی و Grade ۹ کمترین فراوانی را داشت.

جدول ۲: فراوانی ژنوتیپ های پلی مورفیسم ژن *RNASEL* در جایگاه R462Q در مردان با سرطان پروستات در مقایسه با گروه BPH. نتایج نشان می دهد که فراوانی ژنوتیپ AA در گروه سرطان به شکل معنی داری ($P=0.02$) بیشتر از گروه BPH است.

ژن	ژنوتیپ	گروه بیماران سرطان پروستات (تعداد افراد) (درصد)	گروه کنترل BPH (تعداد افراد) (درصد)
<i>RNASEL</i>	GG	۱۴ (۲۲/۹۴٪)	۳۶ (۳۵/۶۵٪)
	GA	۳۷ (۵۹/۰۳٪)	۵۹ (۵۸/۴۱٪)
	AA	۱۱ (۱۸/۰۳٪)	۶ (۵/۹۴٪)

Benign Prostatic Hyperplasia (BPH)

بحث

را با ابتلا به سرطان پروستات بررسی کردند، نشان دادند که فراوانی ژنوتیپ AA ژن *RNASEL* در جایگاه R462Q در بیماران با سرطان پروستات نسبت به گروه کنترل به شکل معنی داری بیشتر است و این مطالعه نشان می دهد که این ژنوتیپ با پیش آگهی بد بیماری ارتباط دارد (Casey، ۱۷). و همکاران در سال ۲۰۰۲ گزارش کردند که فراوانی ژنوتیپ AA در مردان سیاه پوست آفریقایی-آمریکایی تبار

نتایج مطالعه حاضر نشان می دهد که پلی مورفیسم تک نوکلئوتیدی جایگاه R462Q ژن *RNASEL* با ابتلا به سرطان پروستات در غرب ایران مرتبط است و فراوانی ژنوتیپ AA در این جایگاه به شکل معنی داری در مردان با سرطان پروستات بیشتر از مردان BPH است ($P=0.02$). Alvarez و همکاران در سال ۲۰۱۲ که ارتباط چندین ژن

با سرطان پروستات نسبت به مردان سالم به شکل معنی داری افزایش نشان می دهد. افرادی که حامل ژنوتیپ AA بودند بیش از ۲ برابر شانس ابتلا به سرطان پروستات در آنها افزایش نشان داد (۱۸). ملک پور و همکاران گزارش کردند که بیماران با سرطان پروستات در شرق ایران ۲/۵٪ حامل ژنوتیپ AA بودند و در مطالعه ما ۸/۰۳٪ بیماران سرطان پروستات ژنوتیپ AA داشتند (۱۹). در مطالعه ذکر شده گروه کنترل وجود نداشت در نتیجه مقایسه ی ژنوتیپ ها با جمعیت بدون سرطان پروستات صورت نگرفته بود. تعداد افراد با سرطان پروستات در مطالعه ملک پور و همکاران ۲۰۰ بیمار بود که یکی از دلایل افزایش درصد حاملین ژنوتیپ AA نسبت به مطالعه ما می تواند همین تفاوت باشد. بابایی و همکاران در تهران که ارتباط پلی مورفیسم ژن *RNASEL* را در جایگاه R462Q در بیماران با سرطان پروستات بررسی کردند، نشان دادند که فراوانی ژنوتیپ AA در بیماران با سرطان پروستات بیشتر از بیماران BPH بود، اما این تفاوت معنی دار نبود (۱۲). نتیجه این مطالعه نیز حاکی از بالا بودن ژنوتیپ AA در بیماران با سرطان پروستات نسبت به افراد بدون سرطان پروستات در جمعیت ایران است که این نتایج با مطالعه ما هم خوانی دارد، اما در مطالعه بابایی و همکاران دلیل معنی دار نبودن تفاوت فراوانی ژنوتیپ در بیماران و گروه کنترل، می تواند مربوط به تعداد کمتر بیماران این مطالعه در مقایسه با مطالعه ما باشد. نتایج مطالعات جمعیت ایران در نقاط مختلف کشور و بعضی جمعیت های کشور های دیگر نشان می دهد افرادی که حامل ژنوتیپ AA در جایگاه R462Q ژن *RNASEL* هستند شانس بالاتری برای ابتلا به سرطان پروستات دارند که این نتایج با نتیجه مطالعه ما در غرب ایران هم خوانی دارد. مطالعه ما نشان داد مردانی که ژنوتیپ AA را دارند شانس ابتلا به سرطان پروستات در آنان بیش از ۳ برابر افزایش می یابد.

Zhang L و همکاران در سال ۲۰۱۴ ارتباط پلی مورفیسم های ۵ ژن مختلف از جمله ژن *RNASEL* را با ابتلا به سرطان پروستات در جمعیت شمال چین مطالعه کردند. آنها نشان دادند که فراوانی پلی مورفیسم ژن *RNASEL* در جایگاه های rs10505474 و rs7837328 با ابتلا به سرطان پروستات در این جمعیت ارتباط مستقیمی داشت (۰/۰۵ < p) ولی در جایگاه R462Q ارتباط معنی داری گزارش نشد (۲۰). مطالعه Huihua نیز نشان داد که پلی مورفیسم در جایگاه R462Q ارتباط معنی داری با ابتلا به سرطان پروستات نداشت (۲۱). نتایج مطالعه ما و مطالعاتی دیگر ارتباط پلی مورفیسم جایگاه R462Q با ابتلا به سرطان پروستات را نشان می دهد که این یافته با نتایج دو مطالعه ذکر شده بالا مطابقت ندارد، این تفاوت می تواند به علت تفاوت های نژادی باشد. فراوانی پلی مورفیسم های ژن ها ممکن است در جمعیت های مختلف، تفاوت داشته باشد. مطالعات ارتباط پلی مورفیسم در ژن های مختلف با ابتلا به بیماری ها در جمعیت های مختلف به انجام می رسد زیرا الگوی این تغییرات ژنتیکی در نژاد های مختلف تفاوت هایی را نشان می دهد (۲۲).

از آنجا که پلی مورفیسم R462Q ژن *RNASEL* موجب کاهش فعالیت آنزیم به میزان ۳ برابر حالت طبیعی می شود، این فرضیه مطرح شد که عفونت های ویروسی می تواند با ابتلا به سرطان پروستات مرتبط باشد (۲۳). بر این اساس نتایجی مبنی بر وجود یک ویروس با منشا موشی در بافت سرطانی پروستات به نام Xenotropic Murine Leukemia Virus (XMRV) گزارش شد. وجود این ویروس در بیماران سرطان پروستات که ژنوتیپ AA را در این جایگاه داشتند به شکل معنی داری بیشتر از بیماران با ژنوتیپ AG و GG بود (۲۴). البته در مطالعات بعدی وجود این ویروس در بافت سرطانی پروستات و ارتباط آن با سرطان پروستات تا حدود زیادی رد شد و حضور این توالی

نتایج مطالعه ما نشان داد که پلی مورفیسم ژن *RNASEL* در جایگاه R462Q با ابتلا به سرطان پروستات در سندج، مرتبط است. افراد حامل ژنوتیپ AA در این جایگاه شانس خطر ابتلا به سرطان پروستات در آنان بیشتر است. از آنجا که پلی مورفیسم ژن ها در جمعیت های مختلف الگویی متفاوت دارد نتایج این مطالعه ارتباط ابتلا به سرطان پروستات را با پلی مورفیسم ذکر شده در غرب ایران را نشان می دهد.

تشکر و قدردانی

این مقاله حاصل از طرح مصوب معاونت پژوهشی دانشگاه علوم پزشکی کردستان می باشد، بدین وسیله نویسندگان از معاونت پژوهشی دانشگاه علوم پزشکی کردستان کمال تشکر را دارند.

ویروسی را به احتمال زیاد مربوط به آلودگی آزمایشگاهی دانستند (۲۶ و ۲۵).

مطالعات مختلفی ارتباط پلی مورفیسم های دیگر ژن *RNASEL* با ابتلا به سرطان پروستات را نشان داده اند (۸، ۱۰، ۱۱). ارتباط پلی مورفیسم ژن *RNASEL* در جایگاه R462Q با ابتلا به سرطان و بیماری های دیگر نیز گزارش شده است. Bartsch و همکاران نشان دادند افرادی که حامل ژنوتیپ هموزیگوت AA در این جایگاه هستند ۳/۵ برابر بیشتر شانس خطر ابتلا به سرطان پانکراس را دارند (۱۵). Hsing و همکاران نشان دادند که وجود ژنوتیپ AA در جایگاه R462Q ژن *RNASEL* با افزایش تشکیل سنگ های صفرا ارتباط مستقیم دارد (۲۷).

نتیجه گیری

Reference

1. Torre LA, Bray F, Siegel RL, Ferlay J, Lortet-Tieulent J, Jemal A. Global cancer statistics, 2012. A Cancer Journal for Clinicians 2015;65:87-108.
2. Simard J, Dumont M, Labuda D, Sinnett D, Meloche C, El-Alfy M, et al. Prostate cancer susceptibility genes: lessons learned and challenges posed. Endocrine Related Cancer 2003;10:225-59.
3. Simard J, Dumont M, Soucy P, Labrie F. Perspective: prostate cancer susceptibility genes. Endocrinology 2002;143:2029-40.
4. Gusho E, Baskar D, Banerjee S. New advances in our understanding of the "unique" RNase L in host pathogen interaction and immune signaling. Cytokine 2016; in press.
5. Chakrabarti A, Jha BK, Silverman RH. New insights into the role of RNase L in innate immunity. Journal of Interferon & Cytokine Research 2011;31:49-57.
6. Samuel MA, Whitby K, Keller BC, Marri A, Barchet W, Williams BR, et al. PKR and RNase L contribute to protection against lethal West Nile Virus infection by controlling early viral spread in the periphery and replication in neurons. Journal of Virology 2006;80:7009-19.
7. Siddiqui MA, Mukherjee S, Manivannan P, Malathi K. RNase L cleavage products promote switch from autophagy to apoptosis by caspase-mediated cleavage of Beclin-1. International Journal of Molecular Sciences 2015;16:17611-36.
8. Beuten J, Gelfond JA, Franke JL, Shook S, Johnson-Pais TL, Thompson IM, et al. Single and multivariate associations of MSR1, ELAC2, and RNASEL with prostate cancer in an ethnic diverse cohort of men. Cancer Epidemiology, Biomarkers & Prevention 2010;19:588-599.

9. Xiang Y, Wang Z, Murakami J, Plummer S, Klein EA, Carpten JD, et al. Effects of RNase L mutations associated with prostate cancer on apoptosis induced by 2',5'-oligoadenylates. *Cancer Research* 2003;63:6795-801.
10. Shook SJ, Beuten J, Torkko KC, Johnson-Pais TL, Troyer DA, Thompson IM, et al. Association of RNase L variants with prostate cancer risk in Hispanic Caucasians and African Americans. *Clinical Cancer Research* 2007; 13:5959-5964.
11. Rennert H, Zeigler-Johnson CM, Addya K, Finley MJ, Walker AH, Spangler E, et al. Association of susceptibility alleles in ELAC2/HPC2, RNASEL/HPC1, and MSR1 with prostate cancer severity in European American and African American men. *Cancer Epidemiology, Biomarkers & Prevention* 2005;14:949-57.
12. Babaei F, Ahmadi A, Rezaei F, Jalilvand S, Ghavami N, Mahmoudi M, et al. Xenotropic murine leukemia virus-related virus and RNase L R462Q variants in Iranian patients with sporadic prostate cancer. *Iranian Red Crescent Medical Journal* 2015;17:e19439.
13. Wiklund F, Jonsson BA, Brookes AJ, Stromqvist L, Adolfsson J, Emanuelsson M, et al. Genetic analysis of the RNase L gene in hereditary, familial, and sporadic prostate cancer. *Clinical Cancer Research* 2004;10:7150-6.
14. Robbins CM, Hernandez W, Ahaghotu C, Bennett J, Hoke G, Mason T, et al. Association of HPC2/ELAC2 and RNase L non-synonymous variants with prostate cancer risk in African American familial and sporadic cases. *The Prostate* 2008;68:1790-7.
15. Bartsch DK, Fendrich V, Slater EP, Sina-Frey M, Rieder H, Greenhalf W, et al. RNase L germline variants are associated with pancreatic cancer. *International Journal of Cancer* 2005;117:718-22.
16. Madsen BE, Ramos EM, Boulard M, Duda K, Overgaard J, Nordmark M, et al. Germline mutation in RNase L predicts increased risk of head and neck, uterine cervix and breast cancer. *PLoS One* 2008;3:e2492.
17. Alvarez-Cubero MJ, Entrala C, Fernandez-Rosado F, Martinez-Gonzalez LJ, Alvarez JC, Suarez A, et al. Predictive value in the analysis of RNase L genotypes in relation to prostate cancer. *Prostate Cancer and Prostatic Diseases* 2012;15:144-9.
18. Casey G, Neville PJ, Plummer SJ, Xiang Y, Krumroy LM, Klein EA, et al. RNase L Arg462Gln variant is implicated in up to 13% of prostate cancer cases. *Nature Genetics* 2002;32:581-3.
19. Reza MA, Fahimeh G, Reza MH. Evaluation of xenotropic murine leukemia virus and its R426Q polymorphism in patients with prostate cancer in Kerman, southeast of Iran. *Asian Pacific Journal of Cancer Prevention : APJCP* 2012;13:3669-73.
20. Zhang LL, Sun L, Zhu XQ, Xu Y, Yang K, Yang F, et al. rs10505474 and rs7837328 at 8q24 cumulatively confer risk of prostate cancer in Northern Han Chinese. *Asian Pacific Journal of Cancer Prevention : APJCP* 2014;15:3129-32.
21. Li H, Tai BC. RNase L gene polymorphisms and the risk of prostate cancer: a meta-analysis. *Clinical Cancer Research* 2006;12:5713-9.
22. Lohmueller KE. The distribution of deleterious genetic variation in human populations. *Current Opinion in Genetics & Development* 2014;29:139-46.
23. Arias M, Fan H. The saga of XMRV: a virus that infects human cells but is not a human virus. *Emerging Microbes & Infections* 2014;3:1-6.
24. Retraction. Identification of a novel gammaretrovirus in prostate tumors of patients homozygous for R462Q RNASEL variant. *PLoS Pathogens* 2012;8: e25.

25. Hong P, Li J. Lack of evidence for a role of xenotropic murine leukemia virus-related virus in the pathogenesis of prostate cancer and/or chronic fatigue syndrome. *Virus Research* 2012;167:1-7.
26. Khodabandehloo M, Hosseini W, Rahmani MR, Rezaee MA, Hakhamaneshi MS, Nikkhoo B, et al. No detection of xenotropic murine leukemia virus-related viruses in prostate cancer in Sanandaj, west of Iran. *Asian Pacific Journal of Cancer Prevention : APJCP* 2013;14:6929-33.
27. Hsing AW, Sakoda LC, Rashid A, Andreotti G, Chen J, Wang BS, et al. Variants in inflammation genes and the risk of biliary tract cancers and stones: a population-based study in China. *Cancer Research* 2008;68:6442-52.