مطالعه بیان ژن BATF2 در نمونه‌های سرطان پستان و همراهی آن با فاکتورهای بالینی و میزان بقای بیماران

محمد قاسمی[۱]، دکتر سمیه رئیسی[۲*]، مژگان اصلانی[۱]

۱. دانشجوی دکتری دامپزشکی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه شهرکرد، شهرکرد، ایران.
۲. استادیار گروه ژنتیک، دانشکده علوم پایه، دانشگاه شهرکرد، شهرکرد، ایران.

تاریخ دریافت: ۱۳۹۹/۰۲/۱۵ **تاریخ پذیرش:** ۱۳۹۹/۰۵/۰۶

خلاصه

مقدمه: فاکتور رونویسی زیپ لوسینی بازی ۲ (BATF2) با برخی از انواع سرطان در ارتباط است و تغییرات بیان BATF2 به‌طور مکرر در سرطان‌های متاستازی و تهاجمی مشخص شده است. بیان BATF2 به‌عنوان عامل مهاری تکوین سلول‌های توموری بوده و بیان کاهش یافته BATF2 با پیش‌آگهی ضعیف در سرطان‌های مختلف همراه است. با این وجود، نقش BATF2 در سرطان پستان کمتر شناخته شده است. بنابراین مطالعه حاضر با هدف بررسی بیان ژن BATF2 در سرطان پستان انجام شد.

روش‌کار: در این مطالعه مورد- شاهدی که در سال‌های ۹۷-۱۳۹۵ انجام شد، ۴۰ بافت پارافینه سرطان پستان و ۴۰ بافت غیرتوموری مجاور بررسی شدند. پس از استخراج RNA تام و سنتز cDNA، بیان نسبی ژن با استفاده از روش Real-Time PCR به‌دست آمد و به‌وسیله روش $\mathbf{2^{-\Delta\Delta ct}}$ ارزیابی شد. همچنین همراهی بیان ژن با فاکتورهای بالینی و میزان بقاء مورد بررسی قرار گرفت. تجزیه و تحلیل داده‌ها با استفاده از نرم‌افزار آماری SPSS (نسخه ۲۲) و آزمون‌های تی و ANOVA انجام شد. میزان p کمتر از ۰/۰۵ معنی‌دار در نظر گرفته شد.

یافته‌ها: بیان BATF2 به‌طور قابل توجهی در بافت‌های توموری پستان در مقایسه با بافت‌های غیرتوموری کاهش داشت (p=۰/۰۰۰۱). سازگار با این نتایج، بیان BATF2 با متاستاز (p=۰/۰۰۸) و درجه توموری بالا (p=۰/۰۱) همراه بود. علاوه بر این، کاهش بیان BATF2، کاهش در میزان بقاء کلی را در مقایسه با میزان بیان بالای آن نشان داد (p=۰/۰۳).

نتیجه‌گیری: BATF2 نقش مهارکننده تومور را در پیشرفت سرطان پستان ایفا می‌کند. علاوه بر این، کاهش بیان BATF2 با متاستاز و همچنین پیش‌آگهی ضعیف سرطان در ارتباط است، بنابراین BATF2 ممکن است در تشخیص، درمان و پیش‌آگهی افراد مبتلا به این بیماری مفید باشد. با این وجود بررسی‌های بیشتری برای اثبات این ادعا نیاز است.

کلمات کلیدی: بقاء، بیان ژن، سرطان پستان، BATF2

* **نویسنده مسئول مکاتبات:** دکتر سمیه رئیسی؛ دانشکده علوم پایه، دانشگاه شهرکرد، شهرکرد، ایران. **تلفن:** ۰۳۸-۳۲۳۲۴۴۰۱ ؛ **پست الکترونیک:** s.reiisi@yahoo.com

مقدمه

سرطان پستان، یکی از متداول‌ترین عوامل بدخیمی در بانوان و دومین علت مرگ‌و میر ناشی از سرطان در میان زنان جهان است. مطابق با گزارش‌های منتشر شده، بروز این سرطان در ایالات متحده به میزان یک زن از هر ۸ زن می‌باشد. بر پایه گفته متخصصان، در ایران سالانه ۸ هزار نفر به سرطان پستان مبتلا می‌شوند و شیوع ابتلاء به سرطان پستان در بین زنان ایرانی حدود ۳۵-۳۰ مورد در ۱۰۰ هزار نفر است. طبق آمارهای جدید در ایران ۶۱۶۰ مورد سرطان پستان در سال‌های اخیر شناسایی شده و ۱۰۶۳ مورد منجر به مرگ شده است. بیشتر بیماران در ایران در سن ۴۹-۴۰ سال هستند (۱).

سرطان پستان یک بیماری به شدت ناهمگن است و مجموعه‌ای از عوامل ژنتیکی و محیطی در شکل‌گیری آن دخیل می‌باشند (۲). از جمله این عوامل می‌توان به سن زمینه فامیلی، بارداری، دریافت استروژن‌های خارجی، اضافه وزن و چاقی، کشیدن سیگار و مصرف مشروبات الکلی اشاره نمود (۳، ۴). بر اساس مطالعات مختلف در جمعیت زنان ایرانی، سرطان پستان عموماً به‌صورت ارثی و ژنتیکی بوده و نقش این ریسک فاکتور در آنها پررنگ‌تر می‌باشد (۵)، از این رو آگاهی از اساس مولکولی فرآیندها و مکانیسم‌های درگیر در بروز و پیشرفت این سرطان، می‌تواند در جهت تشخیص زودهنگام و درمان آن مفید واقع شود. علاوه بر این امروزه مطالعات بسیاری در جهت شناسایی عواملی که بتوانند میزان پاسخ‌دهی به درمان و سرنوشت نهایی بیماران را پیش‌بینی کنند، در حال انجام است. از معمول‌ترین این عوامل که تحت عنوان فاکتورهای پیش‌آگهی دهنده[1] شناخته می‌شوند و در کشور ما نیز به‌طور معمول سنجیده می‌شوند، می‌توان به اندازه و درجه تومور، درگیری عقده‌های لنفاوی زیر بغل، وضعیت گیرنده‌های استروژن (ER)[2] و پروژسترون (PR)[3] و فاکتور رشد انسانی اپیدرمال (HER-2)[4] اشاره کرد (۶، ۷). در واقع فاکتورهای پیش‌آگهی دهنده نشانگرهای زیستی و بالینی هستند که توسط سلول‌های سرطانی و یا در اثر پاسخ بدن به سرطان تولید می‌شوند و با بقای کلی بیمار[5] و بقای فارغ از بیماری[6] در ارتباط هستند (۸، ۹). با توجه به وجود اطلاعات ضد و نقیض در رابطه با نتایج حاصل از بررسی این نشانگرها و همچنین اثرگذاری عوامل مختلف جمعیتی و محیطی بر آنها، شناسایی فاکتورهای پیش‌آگهی دهنده مناسب که بتوانند در اتخاذ تصمیم‌گیری‌های بالینی و همچنین پیش‌بینی سرنوشت نهایی بیماران کمک کننده باشند، مفید است. برای بررسی این مورد در مطالعه حاضر، ژن BATF2[7] با این هدف انتخاب و مورد مطالعه قرار گرفت. ژن BATF2 در موقعیت کروموزومی 11q12-13 قرار دارد و برای اولین بار در سال ۲۰۰۸ کلون و شناسایی شد. محصول نهایی این ژن فاکتور رونویسی BATF2 است که تحت عنوان SARI[8] نیز شناخته می‌شود و عضوی از زیرخانواده فاکتورهای رونویسی زیپ لوسینی بازی (BATF) می‌باشد (۱۰). از دیگر اعضای این خانواده، فاکتورهای BATF و BATF3 هستند که در کنار BATF2 نقش مهمی در توسعه و تمایز لنفوسیت‌های T و B و همچنین سلول‌های دندریتیک دارند (۱۱، ۱۲). همچنین BATF2 با تنظیم عملکرد ماکروفاژهای مرتبط با تومور[9] باعث القای اثرات ضدتوموری سیستم ایمنی بدن می‌شود (۱۳). بنابراین می‌توان اظهار داشت که BATF2 به‌عنوان یک فاکتور رونویسی مهم در تنظیم پاسخ‌های ایمنی ذاتی و اکتسابی دارای عملکرد می‌باشد. مطالعات نشان داده‌اند که BATF2 از طریق مهار تقسیمات سلولی و القای آپوپتوز در کنترل بدخیمی‌های مختلف نقش دارد. برای مثال ونگ و همکاران (۲۰۱۲) نشان دادند که کاهش بیان این ژن با افزایش تکثیر سلول‌های سرطانی و متاستاز آنها در ادنوکارسینوم ریه همراه است (۱۴). علاوه بر این، مطالعات صورت گرفته در مورد نقش احتمالی فاکتور BATF2 در کنترل سرطان کولون نشان داده که این فاکتور رونویسی، با مهار فعالیت محور

[1] Prognostic factors
[2] Estrogen receptors
[3] Progesterone receptors
[4] Human epidermal growth factor receptor 2
[5] Overall survival
[6] Disease-free survival
[7] Basic leucine zipper transcription factor 2
[8] Suppressor of AP-I
[9] Tumor-associated macrophage

HIF-1α/VEGF باعث مهار آنژیوژنز و کاهش رشد تومور می‌شود (۱۵). به تازگی گزارش شده که کمبود این فاکتور با کاهش پیش‌آگهی در کارسینومای کلورکتال و هپاتوسلولار در ارتباط است (۱۶، ۱۷). با توجه به این مطالعات، می‌توان این‌گونه فرض کرد که ژن BATF2 می‌تواند به عنوان یک فاکتور تشخیصی و پیش‌آگهی دهنده در سرطان عمل کند. بنابراین، مطالعه حاضر با هدف بررسی بیان ژن BATF2 در نمونه‌های بافتی سرطان پستان و مقایسه میزان بیان آن با بافت سالم مجاور و همچنین بررسی ارتباط میان سطح بیانی این ژن با فاکتورهای بالینی و بقای کلی بیماران انجام شد.

روش‌کار

در این مطالعه مورد- شاهدی که در سال‌های ۹۷-۱۳۹۵ انجام شد، ۸۰ نمونه بافتی به‌صورت تصادفی از ۴۰ بیمار مبتلا به سرطان پستان (۴۰ بافت توموری و ۴۰ بافت غیرتوموری مجاور آن) از بخش پاتولوژی بیمارستان الزهراء اصفهان تهیه شد. معیار ورود به مطالعه تأیید سرطان پستان توسط پزشک متخصص پاتولوژی بود و موارد دارای توده‌های خوش‌خیم و یا مشکوک از مطالعه حذف شدند. نمونه‌های جمع‌آوری شده در کمیته اخلاق دانشگاه با کد IR.IAU.SHK.REC.1395.1012 مورد تأیید قرار گرفتند. جهت انجام آزمایشات مولکولی، از بلوک‌های پارافینه برش‌های کوچک تهیه و در میکروتیوب‌های استریل قرار داده شد. نمونه‌ها تا زمان انجام آزمایشات در دمای ۲۰- درجه سانتی‌گراد نگهداری شدند. فرم رضایت‌نامه آگاهانه توسط بیماران در دسترس تکمیل و از ایشان دریافت شد. علاوه بر این سن، اطلاعات پاتولوژی و بالینی بیماران مانند اندازه تومور، متاستاز و درجه[1] تومور نیز ثبت و مشخص گردید (۱۸).

(۱۸).

استخراج RNA و سنتز cDNA

RNA تام سلولی به کمک کیت MN آلمان (NucleoSpintotalRNA FFPE-Germany) و مطابق با روش استاندارد کیت استخراج شد. کیفیت و کمیت RNA نمونه‌ها با استفاده از دستگاه اسپکتروفوتومتر (Nanodrop 2000, Thermo FisherScientific, Wilmington, DE, USA) بررسی و تأیید گردید. به‌منظور تکثیرDNA مکمل (cDNA) از کیت سنتز (Takara, Clontech) استفاده شد. این کیت بر اساس آنزیم ترانسکریپتاز معکوس طراحی شده و دستورالعمل توصیه شده در آن مشتمل بر دو مرحله بود؛ مرحله اول اضافه کردن پرایمرهای هگزامر تصادفی و oligo-dt همراه با آنزیم ترانسکریپتاز معکوس (Prime Script RT) و مرحله دوم انکوباسیون در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد به‌مدت ۱۵ دقیقه و در ادامه به‌مدت ۵ ثانیه در دمای ۸۵ درجه سانتی‌گراد بود.

بررسی بیان ژن

طراحی پرایمر برای ژن BATF2 و ژن بتا اکتین به‌عنوان کنترل داخلی واکنش طبق توالی به‌دست آمده از پایگاه Ensemble توسط نرم‌افزار Oligo V.7.0 صورت گرفت و در ادامه برای اطمینان از اختصاصی بودن محل اتصال پرایمرها از سرور BLAST استفاده شد (جدول ۱). بررسی میزان بیان ژن‌ها با استفاده از دستگاهRotor-gene 6000 و رنگ SYBR Green I انجام شد. واکنش برای ژن رفرنس بتااکتین و ژن BATF2 در حجم ۲۰ میکرولیتر به‌صورت زیر بود: SYBR premix Ex taqII (YTA) به مقدار ۱۰ میکرولیتر، پرایمرهای پیشرو و معکوس (۱۰پیکومولار) هر کدام به مقدار ۰/۳ میکرولیتر و ۲ میکرولیتر از cDNA رقیق شده که در نهایت با آب مقطر عاری از نوکلئاز به حجم مورد نظر رسید. دمای انجام واکنش در دستگاه نیز به این‌صورت بود: در ابتدا، فعال شدن آنزیم پلی‌مراز و واسرشت‌سازی اولیه در دمای ۹۵ درجه سانتی‌گراد به‌مدت ۱۰ دقیقه و در ادامه ۴۰ سیکل واکنش تکثیر که شامل ۱۵ ثانیه دناتوراسیون در دمای ۹۵ درجه سانتی‌گراد، ۲۰ ثانیه جهت اتصال پرایمرها در ۶۱ درجه سانتی‌گراد و ۲۰ ثانیه برای طویل‌سازی قطعات در ۷۲ درجه سانتی‌گراد، بود. مرحله ذوب[2] برای محصولات در دمای ۹۵-۷۲ درجه سانتی‌گراد انجام شد

[1] Grade

[2] Melting

و برای هر نمونه نیز ۲ بار تکرار در هر چرخه در نظر گرفته شد. در پایان برای تجزیه و تحلیل داده‌های حاصل از واکنش، از روش دلتا Ct و فرمول $\mathbf{2^{-\Delta\Delta ct}}$ استفاده شد (۱۹).

در ابتدای مطالعه تعداد ۶۰ نمونه پارافینه انتخاب شد که بعد از بررسی اطلاعات بالینی و دموگرافیک آن‌ها، حدود ۱۵ نمونه به‌دلیل نقص در اطلاعات بالینی حذف شدند. ۵ نمونه نیز به‌دلیل عدم کیفیت RNA استخراج شده از بررسی‌های بعدی کنار گذاشته شدند. در نمونه‌های باقی‌مانده، به‌دلیل کامل بودن اطلاعاتی مانند درجه توموری، اندازه تومور و متاستاز به گره لنفی در تمامی نمونه‌ها، آنالیز بر روی نمونه‌های باقی‌مانده انجام شد. متاستاز به نواحی دور از تومور در بیشتر نمونه‌ها گزارش نشده بود و بنابراین تنها متاستاز به گره لنفی مورد توجه قرار گرفت.

به منظور بررسی میزان بقاء در سرطان پستان و ارتباط با میزان بیان ژن *BATF2* از اطلاعات بیماران در بانک TCGA استفاده شد و با آنالیز رگرسیون (نتایج آن گزارش نشده است) COX، نمودار کاپلان مایر رسم شد. در این بررسی دو گروه نمونه با میزان بیان بالا و پایین BATF2 مورد آنالیز قرار گرفتند و میزان بقاء در یک دوره ۲۰ ساله ارزیابی شد.

داده‌ها پس از گردآوری با استفاده از نرم‌افزار آماری SPSS (نسخه ۲۲) مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفتند. با توجه به توزیع نرمال داده‌ها، از آزمون آماری تی برای ارزیابی میزان بیان ژن‌های BATF2 و بتااکتین در نمونه‌های توموری و غیرتوموری و همچنین بررسی گروه‌های سنی، اندازه تومور و متاستاز استفاده شد. جهت بررسی ارتباط میزان بیان ژن با درجه تومور نیز از آزمون ANOVA استفاده شد. تمامی نمودارها توسط نرم‌افزار GraphPad Prism version 7.01 رسم شدند و بررسی میزان بقاء توسط روش رگرسیون Cox و منحنی کاپلان مایر انجام شد. میزان p کمتر از ۰/۰۵ معنی‌دار در نظر گرفته شد.

جدول ۱- توالی پرایمرهای مورد استفاده در مطالعه

نام ژن	توالی '3-'5	اندازه محصول
بتا اکتین	F: AGAGCTACGAGCTGCCTGAC R: AGCACTGTGTTGGCGTACAG	۱۸۴ جفت باز
BATF	F: AGACCCCAAGGAGCAACA R: CAGGGCGAGGTTGTCTTT	۱۴۰ جفت باز

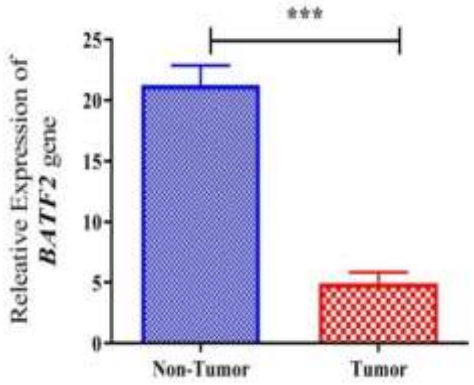
یافته‌ها

در مطالعه حاضر، ۴۰ بافت توموری سرطان پستان به همراه بافت سالم مجاور آن بررسی شدند. نمونه‌های تهیه شده متعلق به مبتلایان سرطان پستان با میانگین سنی ۱/۴۲±۵۱/۸۲ سال بود که در طی سال‌های ۹۴-۱۳۹۳ جمع‌آوری شده بودند. اطلاعات دموگرافیک و مشخصات بالینی مربوط به نمونه‌های مورد مطالعه در جدول ۲ مشخص شده است. برای بررسی بیان ژن از روش کمّی Real-Time PCR استفاده شد و منحنی ذوب ژن BATF2 و ژن کنترل داخلی (بتا اکتین) به‌صورت تک‌قله به‌دست آمد که بیانگر عملکرد اختصاصی پرایمرهای طراحی شده می‌باشد. بعد از حصول اطمینان از بهینه بودن شرایط انجام واکنش و اختصاصی بودن محصولات، بررسی بیان ژن برای تمام نمونه‌ها انجام و بیان نسبی برای هر نمونه معین شد. بر اساس نتایج حاصل از آزمون تی، مشخص شد که میانگین بیان نسبی ژن BATF2 در بافت توموری نسبت به بافت سالم مجاور دارای کاهش مشخصی می‌باشد؛ به‌طوری‌که بیان ژن در نمونه‌های توموری نسبت به نمونه‌های سالم تقریباً ۳ برابر کمتر بود و اختلاف معناداری بین آنها وجود داشت (p=۰/۰۰۰۱) (شکل ۱). علاوه بر این، بررسی بیان ژن در وضعیت‌های کلینیکی مختلف نیز مورد مطالعه قرار گرفت. از آنجایی که میانگین اندازه نمونه‌های توموری تقریباً ۴ سانتی‌متر بود؛ تمامی نمونه‌های توموری به دو دسته کوچک‌تر از ۴ سانتی‌متر و بزرگ‌تر یا مساوی ۴ سانتی‌متر تقسیم شدند و کاهش بیان قابل توجهی در تومورهای با اندازه بزرگ‌تر از ۴ سانتی‌متر مشاهده شد.

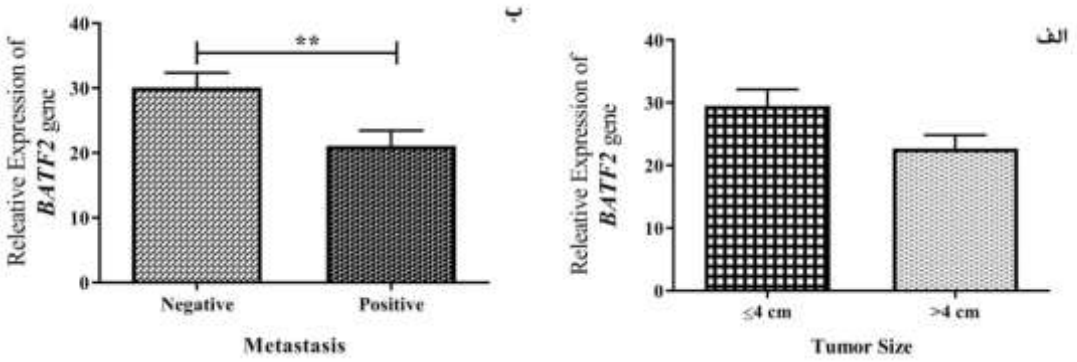
با این حال از نظر آماری ارتباط معناداری برای این اختلاف در میزان بیان ژن مشاهده نشد (p=۰/۰۵۹) (شکل۲- الف). همچنین در بررسی ارتباط میان میزان بیان ژن BATF2 و متاستاز به گره‌های لنفاوی، بیان ژن در تومورهای متاستاز دهنده نسبت به عدم متاستاز با کاهش همراه بود و این تفاوت بیان در دو گروه مورد بررسی، از نظر آماری اختلاف معناداری را نشان داد (p=۰/۰۰۸) (شکل۲- ب). با در نظر گرفتن همراهی بین بیان ژن و درجه توموری، کاهش بیان آشکاری در درجات توموری ۲ و ۳ در مقایسه با درجه توموری ۱ مشاهده شد که از نظر آماری معنادار بود (p=۰/۰۱) (شکل۲- ج). به‌منظور بررسی ارتباط میزان بیان ژن و بقای کلی در بیماران از آنالیز کاکس و رسم نمودار کاپلان مایر استفاده شد. رسم نمودار توسط پایگاه OncoLnc صورت گرفت و مشخص شد که کاهش بیان ژن BATF2 در همراهی با کاهش میزان بقای بیماران می‌باشد (p=۰/۰۳۹) (شکل۲- د).

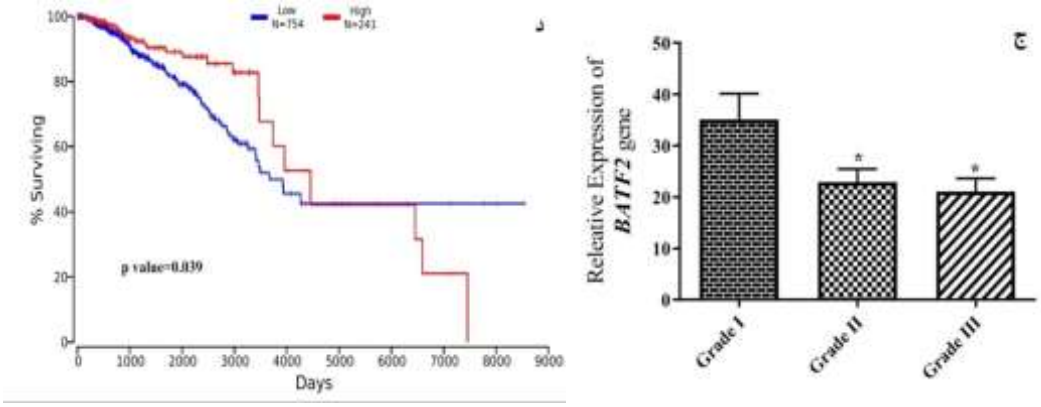
جدول۲- اطلاعات دموگرافی و کلینوپاتولوژی مربوط به نمونه‌های مورد مطالعه.

	اطلاعات بالینی بیماران	تعداد (درصد)
	میانگین سنی	۱/۴۲±۵۱/۸۲
میانگین اندازه تومور	کمتر از ۴ سانتی‌متر	۱۲ (۳۰)
	بیشتر از ۴ سانتی‌متر	۲۸ (۷۰)
متاستاز به گره‌های لنفی	مثبت	۲۱ (۵۲/۵)
	منفی	۱۹ (۴۷/۵)
درجه توموری	۱	۱۱ (۲۷/۵)
	۲	۱۶ (۴۰)
	۳	۱۳ (۳۲/۵)



شکل ۱- مقایسه میانگین بیان نسبی ژن BATF2 در بافت‌های توموری و غیرتوموری در سرطان پستان





شکل۲- مقایسه میزان بیان نسبی ژن BATF2: الف) در تومورهای با اندازه مساوی و کوچک‌تر از ۴ سانتی‌متر و بزرگ‌تر از ۴ سانتی‌متر. ب) در بافت‌های با متاستاز مثبت و منفی. ج) در درجات توموری مختلف. د) با میزان بقای کلی در واحد زمان * بیانگر تفاوت معنادار بین دو گروه با مقدار p کمتر از ۰/۰۱ است. ** بیانگر تفاوت معنادار بین دو گروه با مقدار p کمتر از ۰/۰۰۱ است. نمودارها با میزان انحراف معیار مشخص شده‌اند.

بحث

ژن BATF2 از جمله عواملی است که در انواع گوناگونی از سلول‌های ایمنی دارای عملکرد می‌باشد. در سلول‌های B، BATF موجب تنظیم تعویض کلاس‌های ایمنوگلوبین G می‌شود. این فاکتور همچنین در تنظیم تمایز سلول‌های T به‌ویژه لنفوسیت‌های Th2، follicular helper t cells و effector $CD8^+$ t cells نقش مؤثری را ایفا می‌کند (۱۱، ۲۰). علاوه بر نقش این ژن در تنظیم تمایز سلول‌های ایمنی، BATF2 در تنظیم پاسخ‌های التهابی نیز مشارکت می‌کند؛ به این‌صورت که از طریق برهمکنش با پروتئین IRF1 باعث بیان برخی واسطه‌های التهابی نظیر TNF، Ccl5، IL12b و Nos2 در ماکروفاژهای فعال شده می‌شود (۲۱). گذشته از این موارد، به تازگی فعالیت این ژن در ارتباط با تعدادی از سرطان‌ها به صورت جزئی مورد مطالعه قرار گرفته است. در مطالعه لیو و همکاران (۲۰۱۵) در مورد ارتباط ژن BATF2 با سرطان کلورکتال مشخص شد که کاهش بیان این ژن با کاهش بقای کلی افراد مبتلا همراه می‌باشد. نتایج این مطالعه نشان داد که BATF2 با سرکوب مسیر سیگنالینگی HGF/MET موجب مهار تقسیمات سلولی و القای آپوپتوز در سلول‌های سرطانی می‌شود (۲۲). با توجه به این موارد شاید بتوان این‌گونه فرض کرد که ژن BATF2 و فاکتور رونویسی حاصل از بیان آن می‌توانند به‌عنوان یک بیومارکر غیرتهاجمی و مؤثر در روند تشخیص و تعیین پیش‌آگهی در سرطان پستان در نظر گرفته شوند. در مطالعه حاضر نقش ژن BATF2 در سرطان پستان مورد ارزیابی قرار گرفت و نتایج نشان داد که بیان ژن BATF2 به‌طور قابل ملاحظه‌ای در بافت‌های توموری سرطان پستان نسبت به بافت‌های سالم اطراف با کاهش همراه است. در مورد ارتباط بیان ژن با داده‌های بالینی، بررسی‌ها نشان داد که میزان بیان ژن BATF2 در تومورهای متاستاز دهنده نسبت به عدم متاستاز به میزان زیادی کاهش داشته است. همچنین مطالعه حاضر نشان داد که میان میزان بیان ژن BATF2 با اندازه و درجه تومورهای سرطان پستان رابطه عکس وجود دارد. در تأیید نتایج این پژوهش، ونگ و همکاران (۲۰۱۲) در بررسی میزان بیان ژن BATF2 و ارتباط آن با رخداد متاستاز در افراد مبتلا به آدنوکارسینوم ریه نشان دادند که کاهش بیان این ژن در همراهی با متاستاز سلول‌های سرطانی به عقده‌های لنفاوی می‌باشد. در این تحقیق، محققان نشان دادند که فاکتور پروتئینی SARI (BATF2) از طریق تنظیم مسیر سیگنالینگی GSK-3b-b-catenin نقش مهمی در کنترل پیشرفت آدنوکارسینوم ریه ایفا می‌کند (۱۴). این یافته‌ها همسو با نتایج حاصل از دیگر مطالعات نشان می‌دهد که BATF2 دارای نقش مؤثری در جلوگیری از گسترش بافت‌های توموری می‌باشد (۱۰). در سال‌های اخیر

مطالعات زیادی در جهت شناسایی مکانیسم اثر BATF2 در سرطان‌های مختلف انجام شده است. اولین بار سو و همکاران (۲۰۰۸) در پایان مطالعه خود بر روی تعدادی از لاین‌های سلول‌های سرطانی نشان دادند که BATF2 با مهار فاکتور رونویسیAP-1 باعث کاهش پتانسیل رشد در سلول‌های سرطانی می‌شود (۱۰). دش و همکاران (۲۰۱۰) در مطالعه خود از نقش انتخابی BATF2 در مهار فاکتور CCN1 پرده برداشتند. پروتئین CCN1 از جمله عواملی است که در تنظیم آنژیوژنز، تقسیمات سلولی و فرآیند آپوپتوز دارای نقش می‌باشد. نتایج حاصل از مطالعه آنها نشان داد که BATF2 با مهار CCN1 باعث کاهش رشد و تهاجم در تعدادی از لاین‌های سلولی سرطانی می‌شود (۲۳). به تازگی گروهی از محققان به ارزیابی تأثیر بیان ژن BATF2 بر مقاومت سلول‌های سرطان معده به داروهای ضدسرطان پرداختند و نشان دادند که فاکتور BATF2 از طریق غیرفعال‌سازی مسیر سیگنالینگی Wnt/β-catenin باعث کاهش مقاومت و افزایش حساسیت سلول‌های سرطانی معده نسبت به داروهای ضدسرطانی می‌شود (۲۴).

همچنین در مطالعه حاضر ارتباط میان بیان ژن BATF2 با میزان بقای کلی بیماران بررسی شد. همانطور که در شکل۲- د ملاحظه می‌شود، افرادی که بیان ژن BATF2 در آنها بیشتر است، دارای طول عمر و بقای بیشتری می‌باشند. در مقابل، افرادی که سطح پایین‌تری از بیان ژن BATF2 را نشان می‌دهند، از طول عمر و بقای کلی کمتری برخوردارند. بنابراین، می‌توان این‌گونه نتیجه‌گیری کرد که کاهش بیان BATF2 به‌صورت معنی‌داری در همراهی با کاهش میزان بقای کلی بیماران است. مشابه با مطالعه حاضر، تاکنون مطالعات دیگری نیز جهت بررسی ارتباط میان بیان ژن BATF2 با مدت بقای کلی بیماران صورت گرفته است که با وجود تفاوت‌هایی همچون نوع سرطان مورد بررسی، اندازه جامعه آماری و همچنین تفاوت در اطلاعات کلینوپاتولوژیک، نقطه اشتراک همگی، رابطه مستقیم بین بیان BATF2 با مدت بقای کلی بیماران می‌باشد. در مطالعه دای و همکاران (۲۰۱۶) با مقایسه تراز بیان ژن BATF2 با اطلاعات بالینی مربوط به ۱۳۵ بیمار مبتلا به سرطان کولون به این نتیجه رسیدند که کاهش بیان این ژن در همراهی با کاهش مدت بقای کلی بیماران است (۱۵). در مطالعه ژو و همکاران (۲۰۱۳) در بررسی میزان بیان BATF2 در افراد مبتلا به سرطان سلول‌های غیرکوچک ریه نشان دادند بیمارانی که سطح بیان ژن BATF2 در آنها کمتر است، علاوه بر اینکه با مراحل پیشرفته‌تری از سرطان ریه مواجهند، با متاستاز سلول‌های سرطانی به عقده‌های لنفی نیز دست به گریبانند. این محققین در پایان مطالعه خود بیان داشتند که کاهش بیان این ژن در همراهی با پیش‌آگهی بد در بیماران مبتلا به این سرطان می‌باشد (۲۵). همسو با این نتایج، ما و همکاران (۲۰۱۱) در مطالعه خود بر روی میزان بیان ژن BATF2 در بافت‌های توموری و غیرتوموری افراد مبتلا به کارسینوم هپاتوسلولار و ارتباط آن با داده‌های کلینوپاتولوژیکال نشان دادند که کاهش بیان ژن BATF2 در ارتباط با پیش‌آگهی بد در کارسینوم هپاتوسلولار است (۱۷). در یک بررسی مشابه دیگر، ون و همکاران (۲۰۱۴) تغییرات بیان BATF2 را در بیماران مبتلا به کارسینومای سلول‌های سنگ‌فرشی زبان و دهان بررسی کردند و نشان دادند افرادی که نمونه‌های مربوط به آنها سطح پایین‌تری از بیان BATF2 را نشان می‌دهند در مقایسه با کسانی که سطح بیان بیشتری را دارا هستند، از مدت بقای کمتری برخوردارند. بنابراین BATF2 می‌تواند به عنوان یک فاکتور پیش‌آگهی دهنده و همچنین یک هدف درمانی در کارسینومای سلول‌های سنگ‌فرشی زبان و دهان در نظر گرفته شود (۲۶). در تحقیقات و بررسی‌های مربوط به سرطان، میزان بقاء به‌عنوان یکی از اصلی‌ترین شاخص‌های پیش‌آگهی بیماری، مورد توجه قرار می‌گیرد. این شاخص علاوه بر عوامل مختلف دموگرافیک، تحت تأثیر مرحله سرطان در هنگام تشخیص و نوع درمان و یا به بیان دیگر امکانات و اقدامات تشخیصی و درمانی قرار می‌گیرد. میزان بقاء ۵ ساله سرطان پستان در آمریکا از ۶۳٪ در اوایل دهه ۱۹۶۰ به ۹۰٪ در حال

حاضر رسیده است. بهبود این مورد در کشورهای توسعه یافته، بیانگر پیشرفت در مداخلات تشخیصی و درمانی می‌باشد.

از محدودیت‌های مطالعه حاضر می‌توان به عدم دسترسی به برخی اطلاعات بالینی و داده‌های کافی در مورد آن‌ها اشاره کرد. برای مثال در نمونه‌های جمع آوری شده در اغلب موارد به نوع گیرنده‌های سطحی اشاره نشده بود و همچنین با توجه به اینکه از نمونه‌های پارافینه استفاده شد، قسمت استخراج RNA بایستی با حساسیت بالا انجام می‌شد؛ چرا که مقدار RNA در بافت‌های پارافینه به میزان کمتری نسبت به بافت‌های تازه می‌باشد و عواملی مانند روش پارافینه کردن در کیفیت نمونه اثر می‌گذارد.

نتیجه‌گیری

کاهش معناداری در سطح بیان ژن BATF2 در بافت‌های توموری سرطان پستان نسبت به بافت‌های سالم مجاور وجود دارد. بنابراین می‌توان احتمال داد که این ژن دارای نقش مهاری در فرآیند تومورزایی می‌باشد. علاوه بر این، در بررسی ارتباط میان میزان بیان ژن BATF2 با داده‌های بالینی مشخص شد که ارتباطی میان کاهش بیان ژن مذکور با پیشرفت مراحل پاتولوژیک و همچنین پیش‌آگهی ضعیف سرطان پستان وجود دارد. از این رو این ژن می‌تواند در سرطان‌های مختلف به‌ویژه سرطان پستان به‌عنوان یک هدف درمانی مورد توجه قرار گیرد. از طرف دیگر چنین به‌نظر می‌رسد که مطالعه کمی این ژن می‌تواند به‌عنوان یک روش غیرتهاجمی در امر تشخیص و تعیین پیش‌آگهی در موارد سرطان پستان مورد استفاده قرار گیرد. از آنجا که مکانیسم عملکرد این ژن در سرطان پستان هنوز شناخته نشده است، لذا انجام مطالعات تکمیلی جهت شناسایی دقیق عملکرد این ژن در سرطان پستان ضروری به‌نظر می‌رسد.

تشکر و قدردانی

این مطالعه توسط معاونت محترم پژوهشی دانشگاه شهرکرد با شماره گرنت ۳۲۸۵۵M۱GRN۹۷ حمایت شده است. بدین‌وسیله از تمام عزیزانی که در به سرانجام رساندن این مطالعه ما را یاری دادند، به‌خصوص بیمارانی که در مراحل نمونه‌گیری همکاری کردند، تشکر و قدردانی می‌شود.

منابع

1. Akram M, Iqbal M, Daniyal M, Khan AU. Awareness and current knowledge of breast cancer. Biol Res 2017; 50(1):33.
2. DeSantis CE, Fedewa SA, Goding Sauer A, Kramer JL, Smith RA, Jemal A. Breast cancer statistics, 2015: Convergence of incidence rates between black and white women. CA Cancer J Clin 2016; 66(1):31-42.
3. Knight JA, Fan J, Malone KE, John EM, Lynch CF, Langballe R, et al. Alcohol consumption and cigarette smoking in combination: A predictor of contralateral breast cancer risk in the WECARE study. Int J Cancer 2017; 141(5):916-24.
4. McPherson K, Steel CM, Dixon JM. ABC of breast diseases. Breast cancer-epidemiology, risk factors, and genetics. BMJ 2000; 321(7261):624-8.
5. Karami F, Mehdipour P. A comprehensive focus on global spectrum of BRCA1 and BRCA2 mutations in breast cancer. Biomed Res Int 2013; 2013:928562.
6. Vallejos CS, Gómez HL, Cruz WR, Pinto JA, Dyer RR, Velarde R, et al. Breast cancer classification according to immunohistochemistry markers: subtypes and association with clinicopathologic variables in a peruvian hospital database. Clin Breast Cancer 2010; 10(4):294-300.
7. Cheang MC, Chia SK, Voduc D, Gao D, Leung S, Snider J, et al. Ki67 index, HER2 status, and prognosis of patients with luminal B breast cancer. J Natl Cancer Inst 2009; 101(10):736-50.
8. Dunn BK, Wagner PD, Anderson D, Greenwald P. Molecular markers for early detection. Semin Oncol 2010; 37(3):224-42.
9. DeVita VT, Hellman S, Rosenberg SA. Cancer: principles and practice of oncology. 6nd ed. Lippincott Williams & Wilkins; 2001.
10. Su ZZ, Lee SG, Emdad L, Lebdeva IV, Gupta P, Valerie K, et al. Cloning and characterization of SARI (suppressor of AP-1, regulated by IFN). Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America 2008; 105(52):20906-11.

11. Betz BC, Jordan-Williams KL, Wang C, Kang SG, Liao J, Logan MR, et al. Batf coordinates multiple aspects of B and T cell function required for normal antibody responses. J Exp Med 2010; 207(5):933-42.
12. Tussiwand R, Lee WL, Murphy TL, Mashayekhi M, KC W, Albring JC, et al. Compensatory dendritic cell development mediated by BATF–IRF interactions. Nature 2012; 490(7421):502-7.
13. Kanemaru H, Yamane F, Fukushima K, Matsuki T, Kawasaki T, Ebina I, et al. Antitumor effect of Batf2 through IL-12 p40 up-regulation in tumor-associated macrophages. Proc Natl Acad Sci U S A 2017; 114(35):E7331-E40.
14. Wang C, Su Y, Zhang L, Wang M, You J, Zhao X, et al. The function of SARI in modulating epithelial-mesenchymal transition and lung adenocarcinoma metastasis. PloS One 2012; 7(9):e38046.
15. Dai L, Cui X, Zhang X, Cheng L, Liu Y, Yang Y, et al. SARI inhibits angiogenesis and tumour growth of human colon cancer through directly targeting ceruloplasmin. Nat Commun 2016; 7:11996.
16. Liu ZB, Yang Y, Ye XG, Wang L, Tian PY, Zhang YY. Expression and significance of SARI and CCN1 in human colorectal carcinomas. Zhonghua Yi Xue Za Zhi 2011; 91(34):2397-401.
17. Ma H, Liang X, Chen Y, Pan K, Sun J, Wang H, et al. Decreased expression of BATF2 is associated with a poor prognosis in hepatocellular carcinoma. Int J Cancer 2011; 128(4):771-7.
18. Nurozpour Mamasani M, Reiisi S, Peymani M. Down-regulation of BACH2 in formalin-fixed paraffin-embedded breast cancer tissue as transcriptional regulation in cancer. Iran J Obstet Gynecol Infertil 2017; 20(10):105-113.
19. Livak KJ, Schmittgen TD. Analysis of relative gene expression data using real-time quantitative PCR and the $2^{-\Delta\Delta CT}$ method. Methods 2001; 25(4):402-8.
20. Kurachi M, Barnitz RA, Yosef N, Odorizzi PM, DiIorio MA, Lemieux ME, et al. The transcription factor BATF operates as an essential differentiation checkpoint in early effector CD8+ T cells. Nat Immunol 2014; 15(4):373-83.
21. Roy S, Guler R, Parihar SP, Schmeier S, Kaczkowski B, Nishimura H, et al. Batf2/Irf1 induces inflammatory responses in classically activated macrophages, lipopolysaccharides, and mycobacterial infection. J Immunol 2015; 194(12):6035-44.
22. Liu Z, Wei P, Yang Y, Cui W, Cao B, Tan C, et al. BATF2 deficiency promotes progression in human colorectal cancer via activation of HGF/MET signaling: a potential rationale for combining MET inhibitors with IFNs. Clin Cancer Res 2015; 21(7):1752-63.
23. Dash R, Su ZZ, Lee SG, Azab B, Boukerche H, Sarkar D, et al. Inhibition of AP-1 by SARI negatively regulates transformation progression mediated by CCN1. Oncogene 2010; 29(31):4412-23.
24. Yang W, Wu B, Ma N, Wang Y, Guo J, Zhu J, et al. BATF2 reverses multidrug resistance of human gastric cancer cells by suppressing Wnt/β-catenin signaling. In Vitro Cell Dev Biol Anim 2019: 55(6):445-52.
25. Zhou RJ, Shi Z, Zhou K, Wang HD, Zhang GQ, Li XT, et al. Decreased SARI expression predicts poor prognosis of Chinese patients with non-small cell lung cancer. Int J Clin Exp Pathol 2013; 6(10):2056-63.
26. Wen H, Chen Y, Hu Z, Mo Q, Tang J, Sun C. Decreased expression of BATF2 is significantly associated with poor prognosis in oral tongue squamous cell carcinoma. Oncol Rep 2014; 31(1):169-74.