

بررسی بیان چندین ژن سرطانی - بیضه‌ایی در ۳۲ نمونه توموری زنان مبتلا به سرطان پستان

شمس‌الدین یوسف آملی^۱، لایلا کوبی^۲، علیرضا کردافشاری^۴، رضوان اسمعیلی^۵، پانته آ ایزدی^۶، مهرداد نوروزی نیا^۷، کیوان مجید زاده اردبیلی^۸، مرتضی کریمی پور^۹

^۱ کارشناس ارشد ژنتیک، بخش پزشکی مولکولی، مرکز تحقیقات بیوتکنولوژی، انستیتو پاستور ایران
^۲ کارشناس ارشد ژنتیک، گروه زیست‌شناسی، دانشکده علوم پایه، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد علوم تحقیقات تهران
^۳ دانشجوی دکتری تخصصی زیست‌فناوری پزشکی، بخش پزشکی مولکولی، مرکز تحقیقات بیوتکنولوژی، انستیتو پاستور ایران
^۴ کارشناس زیست‌شناسی، بخش پزشکی مولکولی، مرکز تحقیقات بیوتکنولوژی، انستیتو پاستور ایران
^۵ دانشجوی دکتری ژنتیک مولکولی، گروه پژوهشی ژنتیک سرطان، مرکز تحقیقات سرطان پستان، جهاد دانشگاهی
^۶ دکتری ژنتیک پزشکی، گروه ژنتیک پزشکی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی تهران
^۷ استادیار، گروه ژنتیک پزشکی، دانشکده علوم پزشکی، دانشگاه تربیت مدرس
^۸ استادیار، گروه پژوهشی ژنتیک سرطان، مرکز تحقیقات سرطان پستان، جهاد دانشگاهی
^۹ استادیار، بخش پزشکی مولکولی، مرکز تحقیقات بیوتکنولوژی، انستیتو پاستور ایران

چکیده

سابقه و هدف: ژن‌های سرطانی - بیضه‌ایی (*Cancer-Testis genes*) فقط در بافت نرمال بیضه بیان می‌شوند، ولی برخی از آنها در بعضی از انواع سرطان‌ها بیان می‌شوند. هدف از این مطالعه بررسی کیفی بیان چند ژن سرطانی - بیضه‌ایی در بافت توموری بیماران مبتلا به سرطان پستان بود.

روش بررسی: پس از تهیه ۳۲ نمونه سرطان پستان و استخراج RNA، با روش *Multiplex RT-PCR* بیان رونوشت ژن‌های سرطانی - بیضه‌ایی *NY-ESO-1 1a*، *NY-ESO-1 1b*، *SSX2*، *MAGE3* و *SCP1* و ژن *GAPDH* (کنترل داخلی) مورد بررسی قرار گرفتند.

یافته‌ها: ۳ نمونه (۹٪) رونوشت *NY-ESO-1* ایزوفرم *1a* و ۶ نمونه (۱۹٪) رونوشت *NY-ESO-1* ایزوفرم *1b* و در مجموع ۹ نمونه (۲۸٪) ژن *NY-ESO-1* را بیان کردند. ۷ نمونه (۲۲٪) رونوشت *SCP1* و ۲ نمونه (۶٪) رونوشت *MAGE3* را بیان کردند. ۱۳ نمونه (۴۱٪) حداقل یکی از ژن‌های سرطانی - بیضه‌ایی بررسی شده را بیان کردند.

نتیجه‌گیری: دو ژن *SCP1* و *NY-ESO-1* به ترتیب دارای بالاترین فراوانی بیان mRNA در نمونه‌های سرطان پستان بودند. در ادامه پیشنهاد میگردد با بررسی تعداد بیشتری از نمونه‌های سرطان پستان و همچنین بررسی بیان این ژن‌ها در مرحله پروتئین و ایمونوژن بودن آنها، بتوان از این آنتی ژن‌های سرطانی - بیضه‌ای در جهت پیشبرد ایمونوتراپی سرطان پستان استفاده نمود.

واژگان کلیدی: سرطان پستان، RT-PCR، بررسی بیان، ژن‌های سرطانی - بیضه‌ای، تومور مارکر.

مقدمه

در زنان تشکیل می‌دهد (۱). طبق آمارهای انجمن سرطان آمریکا، شیوع سرطان پستان در ایالات متحده در سال ۲۰۰۷ در مجموع ۲۶۰۵۰۰۰ نفر و در سال ۲۰۱۰ میزان بروز سرطان پستان در ایالات متحده ۲۰۹۰۶۰ نفر بود که هر ساله ۴۰۲۳۰ نفر در اثر این بیماری می‌میرند (۲). میزان شیوع سرطان پستان در زنان با بالا رفتن سن، افزایش می‌یابد و

در عصر حاضر سرطان پستان، شایع‌ترین سرطان زنان در اکثر کشورهای دنیاست، به طوری که یک سوم از همه سرطان‌ها را

آدرس نویسنده مسئول: تهران، انستیتو پاستور ایران، مرکز تحقیقات بیوتکنولوژی، بخش پزشکی مولکولی، دکتر مرتضی کریمی پور (email: mortezakarimi@yahoo.com)
 تاریخ دریافت مقاله: ۱۳۹۱/۸/۳۰
 تاریخ پذیرش مقاله: ۱۳۹۱/۱۲/۷

همان طوری که اشاره شد بیان CTAGها به طور طبیعی فقط در بیضه‌ها صورت می‌پذیرد و در بقیه بافت‌های طبیعی بدن از جمله پستان‌ها بیانی از CTAGها وجود ندارد، ولی برخی از سرطان‌های پستان بعضی از این آنتی‌ژن‌ها را بیان می‌کنند (۱۱). هدف از این پیش مطالعه، شناسایی تومور مارکرهایی با بالاترین فراوانی بیان mRNA برخی از CTAGها در سرطان پستان می‌باشد؛ لذا در این راستا ۵ رونوشت از این آنتی‌ژن‌ها (*SSX2* و *MAGE3*, *SCP1* *NY-ESO-1* *1b* *NY-ESO-1* *1a*) که در مطالعات مشابه پیشین در دنیا دارای بالاترین فراوانی بیان در نمونه‌های توموری پستان بودند، انتخاب شدند و در بافت توموری بیماران مبتلا به سرطان پستان به روش RT-Multiplex PCR بررسی شدند (۱۲، ۱۳). این تحقیق می‌تواند به عنوان اولین تحقیق در این زمینه، برای بررسی میزان شیوع بیان این ژن‌های سرطانی - بیضه‌ایی منتخب در نمونه‌های سرطان پستان در ایران مطرح باشد.

مواد و روشها

در این مطالعه case series، نمونه‌های بافت توموری در طی ماه‌های شهریور ۱۳۸۹ تا آذر سال ۱۳۹۰، از بین بیماران مبتلا به سرطان پستان که به انستیتو کانسر در بیمارستان امام خمینی مراجعه می‌نمودند و همچنین از مرکز تحقیقات سرطان پستان جهاد دانشگاهی دانشگاه تهران تهیه شده بودند، بررسی شدند. پس از انتخاب زنان مبتلا به سرطان پستان اسپورادیک و اخذ رضایت نامه، نمونه بافت توموری توسط پزشک مربوطه هنگام جراحی برای این پروژه تهیه شد. در این تحقیق، ۳۲ نمونه توموری با اخذ رضایت نامه از بیماران و رعایت تمام شئون اخلاقی و پزشکی تهیه شد. جهت حفظ پایداری و حفظ محتوای RNA، یک میلی لیتر محلول RNA later (Qiagen) به بافت توموری اضافه و به انستیتو پاستور ایران منتقل شد. سپس RNA با استفاده از کیت RNeasy (Qiagen) از بافت توموری استخراج شد. کمیّت و کیفیت RNA استخراج شده با سنجش اسپکتروفتومتری (Nano photometer IMpLEN) بررسی شد و سپس سنتز cDNA از RNA های استخراج شده از نمونه‌های بافت توموری با استفاده از کیت Quantitect Reverse Transcription (Qiagen) بر طبق دستورالعمل شرکت سازنده انجام شد.

بیان ۵ رونوشت mRNA با پرایمرهای سفارش داده شده (جدول ۱) و با شرایط PCR (بعد از یک مرحله ۹۴ درجه

تقریباً ۹۴ درصد تمام سرطان‌های پستان در زنان بالای ۴۰ سال ایجاد می‌شود. در این کشور، تا سال ۱۹۸۵ سرطان پستان اولین علت مرگ در اثر سرطان را در زنان تشکیل می‌داد که البته از آن به بعد، جای خود را به سرطان ریه داد (۲). علاوه بر شیوع بالای سرطان پستان در ایران، زنان ایرانی در مقایسه با زنان در کشورهای توسعه یافته، حداقل یک دهه زودتر به این بیماری گرفتار می‌شوند که البته ممکن است به علت آمار جمعیتی و مسائل دموگرافیکی خاص کشور ایران باشد (۳).

علی‌رغم درمان‌هایی که بعد از جراحی اولیه انجام می‌شود، بخش قابل توجهی از بیماران، مراحل متاستاتیک بیماری را نشان می‌دهند. البته متوسط بقای عمر بیماران مبتلا به سرطان پستان متاستاتیک از طریق درمان با عوامل هورمونی و شیمی درمانی مثل تلفیقی از آنتی‌بادی تراستوزوماب افزایش می‌یابد ولی بیماری متاستاز دهنده سرانجام کشنده خواهد بود (۴). لذا ایمونوتراپی می‌تواند از اهداف نوید بخشی در زمینه درمان سرطان پستان باشد. پیش شرط ایمونوتراپی مخصوص تومور، شناسایی آنتی‌ژن‌های توموری می‌باشد، ژن‌هایی که به طور انحصاری در سلول‌های توموری بیان می‌شوند و در سلول‌های نرمال بیان نمی‌شوند (۵).

ژن‌های سرطانی - بیضه‌ای (Cancer/Testis genes) گروه هتروژنی از پروتئین‌های ایمونوژنیک به نام آنتی‌ژن‌های سرطانی - بیضه ایی (Cancer/Testis Antigens (CTAG را بیان می‌کنند که اغلب به طور انحصاری در بافت نرمال بیضه و درصدی از انواع تومورهای متفاوت بیان می‌شوند (۶، ۷). البته برخی از آنها در تخمدان و تروفوبلاست جنس ماده هم بیان می‌شوند (۸).

بر طبق اطلاعاتی که در پایگاه اطلاعاتی ژن‌های سرطانی - بیضه ایی (www.cta.lncx.br) وجود دارد و تاکنون بیش از ۱۰۰ عضو از این خانواده ژنی شناسایی شده است. البته همه آنها قادر به برانگیختگی سیستم ایمنی نمی‌باشند، ولی آنها را آنتی‌ژن‌های سرطانی - بیضه‌ای نامیده‌اند. آنتی‌ژن‌های سرطانی - بیضه‌ای پروتئین‌هایی هستند که در حالت طبیعی فقط در رده زایای انسان بیان می‌شوند (۷، ۸). اهمیت کار برای این پروتئین‌ها در این است که به خاطر الگوی بیانی محدود شده‌ای که دارند به طور مکرر توسط سیستم ایمنی بیماران سرطانی شناخته می‌شوند. به هر حال این خاصیت آنتی‌ژن‌سیسته باعث شده است تا احتمال استفاده آنها به عنوان کاندید برای واکسن بر ضد سرطان بالا برود تا اینکه پاسخ ایمنی برانگیخته شود و با رشد تومور مبارزه شود (۹، ۱۰).

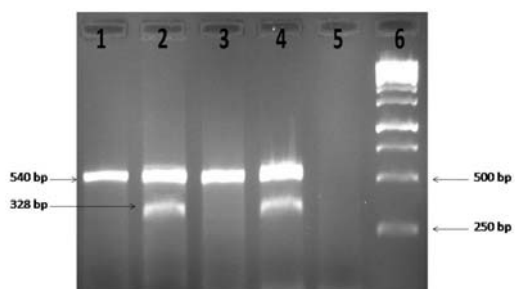
GAPDH به صورت مولتی پلکس در نمونه‌ها بررسی شدند. البته نمونه‌ها به همراه یک کنترل مثبت (یکی از رده‌های سلولی که ژن مورد بررسی را به همراه GAPDH بیان می‌کند)، کنترل منفی (یکی از رده‌های سلولی که فقط *GAPDH* را بیان می‌کند) و یک کنترل بلانک (بدون cDNA) بررسی شدند. در آخر، به منظور تایید صحت آزمایشات پس از انجام PCR محصول به دست آمده روی ژل آگارز ۱/۵ درصد در کنار مارکرهای ۱۰۰ جفت بازی و یک کیلو بازی با ولتاژ ۱۰۰ به مدت ۱ ساعت الکتروفورز شد. سپس از نتیجه کار توسط دستگاه Transilluminator UV عکس گرفته شد و مورد بررسی و آنالیز قرار گرفت.

یافته‌ها

فراوانی بیان رونوشت‌های *NY-ESO-1 1a mRNA* و *NY-ESO-1 1b* در نمونه‌های *SSX2* و *MAGE3*، *SCP1*

بافت توموری سرطان پستان

۳ نمونه (۹٪) از ۳۲ نمونه توموری رونوشت *NY-ESO-1 1a* را بیان کردند. ۶ نمونه (۱۹٪) رونوشت *NY-ESO-1 1b* را بیان کردند که در مجموع ۹ نمونه (۲۸٪) ژن *NY-ESO-1* را بیان کردند. ۷ نمونه (۲۲٪) رونوشت *SCP1* را بیان کردند. ۲ نمونه (۶٪) رونوشت *MAGE3* را بیان کردند. برخی از نتایج الکتروفورز آنها در شکل‌های ۱ و ۲ نشان داده شده است. هیچ یک از نمونه‌های توموری رونوشت ژن *SSX2* را بیان نکردند. البته تمامی نمونه‌ها ژن *GAPDH* را بیان کردند (نمودار ۱).



شکل ۱- نتیجه الکتروفورز محصول Multiplex RT-PCR با پرایمرهای *GAPDH* و *NY-ESO-1 1b* در برخی نمونه‌های توموری. همه نمونه‌ها ژن *GAPDH* را بیان کردند. چاهک شماره ۱ نمونه توموری بدون بیان ژن *NY-ESO-1 1b*، چاهک شماره ۲ نمونه توموری دارای بیان ژن مذکور، چاهک شماره ۳ رده سلولی SW742 به عنوان کنترل منفی، چاهک شماره ۴ رده سلولی A-375 به عنوان کنترل مثبت، چاهک شماره ۵ نمونه بدون cDNA و چاهک شماره ۶ سایز مارکر یک کیلو بازی می‌باشد.

سانتی‌گراد به مدت ۵ دقیقه، ۳۲ چرخه ۹۴ درجه سانتی‌گراد به مدت ۱ دقیقه، ۶۰ درجه سانتی‌گراد به مدت ۱ دقیقه و ۷۲ درجه سانتی‌گراد به مدت ۱/۵ دقیقه و سپس یک مرحله ۷۲ درجه به مدت ۱۰ دقیقه) توسط دستگاه ترمال سایکلر (Bio-Rad, California) مورد بررسی قرار گرفت. در ضمن از رونوشت *GAPDH* (گلیسر آلدئید ۳ فسفات دهیدروژناز) نیز به عنوان کنترل داخلی استفاده شد.

جدول ۱- فهرست پرایمرها استفاده شده در این مطالعه*

اندازه محصول PCR	توالی پرایمرها و موقعیت بازهای آنها در mRNA مربوطه	Accession Number	رونوشت
540 جفت باز	F 5'-GTC AAC GGA TTT GGT CGT ATT-3' (124-144) R 5'-AGT CTT CTG GGT GGC AGT GAT-3' (643-663)	NM_002046	<i>GAPDH</i>
386 جفت باز	F 5'-AGT TCT ACC TCG CCA TGC CT-3' (319-338) R 5'-TCC TCC TCC AGC GAC AAA CAA-3' (684-704)	NM_001327.2	<i>NY-ESO-1 1a</i>
328 جفت باز	F 5'- ATG GAT GCT GCA GAT GCG G-3' (271-289) R 5'-GCT TAG CGC CTC TGC CCT G-3' (580-598)	NM_0011327.2	<i>NY-ESO-1 1b</i>
565 جفت باز	F 5'-GTA CAG CAG AAA GCA AGC AAC TGA ATG-3' (1383-1409) R 5'-GAA GGA ACT GCT TTA GAA TCC AAT TTC C-3' (845-872)	NM_003176.2	<i>SCP1</i>
423 جفت باز	F 5'-GAA GCC GGC CCA GGC TCG-3' (48-65) R 5'-GGA GTC CTC ATA GGA TTG GCT-3' (450-470)	NM_005362.3	<i>MAGE3</i>
435 جفت باز	F 5'-GTG CTC AAA TAC CAG AGA AGA TC-3' (149-171) R 5'-TTT TGG GTC CAG ATC TCT CGT G-3' (562-583)	NM_175698.1	<i>SSX2</i>

* Reverse (R), Forward (F)

در هر واکنش از ۲۲ میکرولیتر (حاوی 1X PCR Buffer، ۰/۲ میلی مولار dNTP MIX، ۱/۵ میلی مولار MgCl₂، ۱۰ پیکو مول از پرایمرهای رفتی و برگشتی، ۲۰۰ نانوگرم از cDNA و ۰/۵ واحد آنزیم DNA Polymerase Taq (سیناژن، ایران) استفاده شد. از آنجایی که هدف، بررسی هم‌زمان کنترل داخلی و ژن مورد نظر بود تا کمترین منفی کاذب در نتایج وجود داشته باشد، بهینه‌سازی شرایط برای بررسی هم‌زمان دو رونوشت صورت گرفت. بهینه‌سازی شامل شیب دمایی، تغییر در میزان آنزیم، پرایمرها، مدت زمان مراحل PCR، مقدار cDNA اولیه بود. پس از بهینه‌سازی شرایط، رونوشت mRNA مورد بررسی به همراه

بحث

یک تومور مارکر ایده آل، mRNA یا پروتئینی است که در سلول‌های سرطانی بیان شود، ولی در سلول‌های غیر سرطانی بیان نشود. دو ژن NY-ESO-1 و SCP1 به ترتیب بالاترین فراوانی بیان mRNA را در بین نمونه‌های توموری سرطان پستان مورد بررسی داشتند. از آنجایی که هیچ یک از ژن‌های خانواده CTAG در بافت نرمال پستان بیان نمی‌شوند، می‌توان این دو ژن را به عنوان کاندیدهای مناسب از بین تومور مارکرها برای ادامه تحقیقات در راستای ایمونوتراپی مطرح نمود (۶، ۷).

برای سنجش بیان، از تکنیک Multiplex RT-PCR برای بررسی بیان رونوشت ژن‌ها استفاده شد. البته مزیت این روش این است که احتمال منفی کاذب کم می‌باشد و از طرفی دیگر با در نظر گرفتن کنترل منفی می‌توان مقایسه‌ای بین نمونه‌های توموری منفی و کنترل منفی داشت. البته در هر آزمایش یک نمونه بدون cDNA (بلانک) نیز در نظر گرفته شد تا از احتمال مثبت کاذب کاسته شود، بنابراین نتایج حاصل از این تکنیک دارای دقت و صحت بالایی می‌باشند.

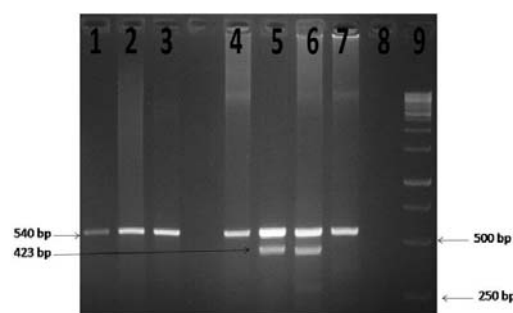
نتایج بررسی ژن NY-ESO-1 در نمونه‌های توموری بیماران مبتلا به سرطان پستان در تحقیقات مختلف ۱۳ نمونه (۱۰/۱٪) از ۱۲۹ نمونه (۱۲)، ۳۷ نمونه (۴۲٪) از ۸۸ نمونه (۱۱)، ۹ نمونه (۱۸٪) از ۵۰ نمونه (۱۴)، ۸۰ نمونه (۲۰٪) از ۴۰۳ نمونه (۱۳) و ۱۱ نمونه (۲۲٪) از ۴۹ نمونه (۱۵) بود که نتایج حاضر فراوانی بیان این ژن را در نمونه‌های مورد مطالعه در بیماران ایرانی ۲۸٪ ارزیابی نمود. نتایج بررسی بیان ژن SCP1 در سرطان پستان در تحقیقات مختلف ۴۴ نمونه (۳۴/۱٪) از ۱۲۹ نمونه (۱۲) و ۶۴ نمونه (۶۵٪) از ۹۸ نمونه (۱) بود، در حالی که نتایج حاضر در این مطالعه بیان این ژن را ۲۲٪ ارزیابی نمود. نتایج بررسی بیان ژن MAGE3 در سرطان پستان در سایر تحقیقات ۲۵ نمونه (۳۷٪) از ۶۷ نمونه (۱۶)، ۳ نمونه (۱۱٪) از ۲۸ نمونه (۱۷) و ۱۱ نمونه (۱۱٪) از ۹۸ نمونه (۱) بود، اما مطالعه ما بیان این ژن را ۶٪ ارزیابی نمود. نتایج بررسی بیان ژن SSX2 در سرطان پستان در سایر تحقیقات ۸ نمونه (۸٪) از ۹۸ نمونه (۱) و ۵ نمونه (۳/۹٪) از ۱۲۹ نمونه (۱۲) بود، در حالی که نتایج حاضر فراوانی بیان این ژن را در نمونه‌های مورد مطالعه صفر درصد ارزیابی نمود.

البته علت گزارش‌های متفاوت از بیان این ژن‌ها در تومورها مشخص نیست، ولی شاید به علت متفاوت بودن مخازن

بررسی بیان همزمان ژن‌های سرطانی - بیضه‌ای در

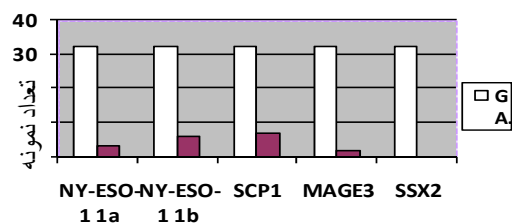
نمونه‌های سرطان پستان

یک نمونه (۳٪) از ۳۲ نمونه توموری هر ۳ رونوشت MAGE3، NY-ESO-1 1a و NY-ESO-1 1b را بیان نمود. ۲ نمونه (۶٪) هر ۲ رونوشت NY-ESO-1 1b و SCP1 را بیان نمود. ۱۱ نمونه (۳۴٪) یکی از ژن‌های NY-ESO-1 یا SCP1 را بیان نمودند. ۱۳ نمونه (۴۱٪) حداقل یکی از ژن‌های سرطانی - بیضه‌ای بررسی شده را بیان کردند.



شکل ۲- نتیجه الکتروفورز محصول Multiplex RT-PCR با

پرایمرهای MAGE3 و GAPDH در برخی از نمونه‌های توموری. تمام نمونه‌ها ژن GAPDH را بیان نمودند. چاهک‌های ۱ و ۲ و ۳ و ۴ نمونه‌های توموری می‌باشند که فقط ژن GAPDH را بیان نمودند. چاهک شماره ۵ نمونه توموری می‌باشد که ژن MAGE3 را نیز بیان نموده است، چاهک شماره ۶ رده سلولی A-375 به عنوان کنترل مثبت، چاهک شماره ۷ رده سلولی MDA-MB-231 به عنوان کنترل منفی، چاهک شماره ۸ نمونه بدون cDNA و چاهک شماره ۹ ساینزمارکریک کیلوبازی می‌باشد.



نمودار ۱- مقایسه بیان ژن‌های سرطانی - بیضه‌ای مورد بررسی و

GAPDH در ۳۲ نمونه توموری سرطان پستان. ژن NY-ESO-1 (رونوشت‌های NY-ESO-1 1a و NY-ESO-1 1b) بیشترین بیان (۲۸٪) را داشت و پس از آن SCP1 ۲۲٪ بیان داشت. MAGE3 و SSX2 با ۶٪ و ۰٪ به ترتیب بیان کمتری از بقیه داشتند.

در برخی موارد عاید شده است، ولی در این مسیر مشکلی اساسی وجود دارد و آن نبود کاندید مناسب برای ایمونوتراپی می‌باشد، به صورتی که پیش شرط لازم برای ایمونوتراپی، بیان ژن سرطانی - بیضه‌ایی در سلول‌های سرطانی می‌باشد (۱۲). می‌توان بدین صورت جمع بندی نمود که دو ژن *SCPI* و *NY-ESO-1* که بیشترین بیان را در بین ژن های مورد بررسی داشتند، به عنوان تومور مارکر سرطان پستان معرفی نمود و در ادامه پیشنهاد می‌شود بررسی بیان رونوشت این دو ژن در تعداد بیشتری از نمونه‌های توموری سرطان پستان انجام شود تا اطلاعات کامل‌تری به دست آید و همچنین بررسی بیان رونوشت ژن‌های مذکور به همراه پیگیری وضعیت بالینی بیماران انجام شود تا در مورد همبستگی احتمالی بین بیان این ژن‌ها و پیش آگهی سرطان پستان اطلاعاتی فراهم آید. البته نیاز است که بررسی بیان ژن‌های *NY-ESO-1* و *SCPI* در مرحله پروتئین در نمونه‌های توموری سرطان پستان انجام شود و در صورت بیان این ژن‌ها در مرحله پروتئین و ایمونوزن بودن آنها، امید است بتوان از این آنتی ژن‌های سرطانی - بیضه‌ایی در جهت پیشبرد ایمونوتراپی سرطان پستان بر پایه این آنتی‌ژن‌ها استفاده نمود.

تشکر و قدردانی

از کلیه کسانی که در انستیتو پاستور ایران، انستیتو کانسر بیمارستان امام، دانشکده پزشکی دانشگاه تربیت مدرس و مرکز تحقیقات سرطان پستان جهاد دانشگاهی دانشگاه تهران ما را در به سرانجام رساندن این تحقیق یاری دادند، تشکر و قدردانی می‌شود.

ژنتیکی جمعیت‌های مختلف بررسی شده باشد یا این که در اثر تفاوت‌های تکنیکی یا تفاوت در حجم نمونه ایجاد شده باشد. البته باید در نظر داشت که نمونه‌های توموری در برخی تحقیقات از مراحل مختلف بیماری تهیه می‌شود و این موضوع هم ممکن است در نتایج اثر بگذارد. همچنین باید هتروژنیته ژنتیکی را در سرطان‌ها موثر دانست و در این راستا شاید اختلافاتی که در تعریف و تشخیص مراحل سرطان پستان وجود دارد بر این موضوع تاثیر داشته باشد.

اگر چه نام پروتئین‌هایی که توسط ژن‌های سرطانی - بیضه‌ایی رمز می‌شوند، آنتی ژن‌های سرطانی - بیضه‌ایی می‌باشد، ولی همه آنها قادر به برانگیختگی سیستم ایمنی نمی‌باشند. علت ایمونوزن بودن این پروتئین‌ها وجود سد خونی - بیضه‌ایی در بیضه می‌باشد. از آنجایی که اسپرما توژنیز در بلوغ شروع می‌شود، آنتی‌ژن‌های سطحی جدید هنگامی بیان می‌شوند که سیستم ایمنی، خودی را از غیر خودی تشخیص می‌دهد. بنابراین اسپرم‌ها در بیضه سیستم ایمنی را تحریک نمی‌کنند و بیضه یک مکانی محافظت شونده از سیستم ایمنی محسوب می‌شود (۹، ۱۸). البته آنتی‌بادی‌هایی هم بر علیه *NY-ESO-1* و *SCPI* در سرطان پستان شناسایی گردیده است (۱، ۱۰).

همه این موارد باعث می‌شود تا آنتی ژن‌های سرطانی - بیضه‌ایی، هدف‌های نوید بخشی برای ایمونوتراپی سرطان پستان باشند و امید برای تهیه واکسن از آنها بالا برود، تا اینکه پاسخ ایمنی برانگیخته شود و با رشد تومور مبارزه شود (۱۹). کارآزمایی بالینی ایمونوتراپی خاص سرطان بر روی بیماران مبتلا به کارسینومای معده ای - روده ایی با استفاده از عرضه کردن پپتید MAGE در حال اجرا می‌باشد و نتایج خوبی نیز

REFERENCES

- Mischo A, Kubuschok B, Ertan K, Preuss KD, Romeike B, Regitz E, et al. Prospective study on the expression of cancer testis genes and antibody responses in 100 consecutive patients with primary breast cancer. *Int J Cancer* 2006; 118:696-703.
- Howlader N, Noone AM, Krapcho M, Neyman N, Aminou R, Waldron W, et al, editors. SEER Cancer Statistics Review, 1975-2008, National Cancer Institute. Bethesda, MD, http://seer.cancer.gov/csr/1975_2008/, based on November 2010 SEER data submission, posted to the SEER web site, 2011.
- Montazeri A, Ebrahimi M, Mehrdad N, Ansari M, Sajadian A. Delayed presentation in breast cancer: a study in Iranian women. *BMC Women's Health* 2003; 3:4.
- Bauer K, Parise C, Caggiano V. Use of ER/PR/HER2 subtypes in conjunction with the 2007 St Gallen Consensus Statement for early breast cancer. *BMC Cancer* 2010; 10:228.
- van de Ven S, Smit VT, Dekker TJ, Nortier JW, Kroep JR. Discordances in ER, PR and HER2 receptors after neoadjuvant chemotherapy in breast cancer. *Cancer Treat Rev* 2011; 37:422-30.
- Kalejs M, Erenpreisa J. Cancer/testis antigens and gametogenesis: a review and "brain-storming" session. *Cancer Cell Int* 2005; 5:4.

7. Zendman AJ, Ruiter DJ, Van Muijen GN. Cancer/testis-associated genes: identification, expression profile, and putative function. *J Cell Physiol* 2003; 194:272-88.
8. Simpson AJ, Caballero OL, Jungbluth A, Chen YT, Old LJ. Cancer/testis antigens, gametogenesis and cancer. *Nat Rev Cancer* 2005; 5:615-25.
9. Meklat F, Li Z, Wang Z, Zhang Y, Zhang J, Jewell A, et al. Cancer-testis antigens in haematological malignancies. *Br J Haematol* 2007; 136:769-76.
10. Costa FF, Le Blanc K, Brodin B. Concise review: cancer/testis antigens, stem cells, and cancer. *Stem Cells* 2007; 25:707-11.
11. Sugita Y, Wada H, Fujita S, Nakata T, Sato S, Noguchi Y, et al. NY-ESO-1 expression and immunogenicity in malignant and benign breast tumors. *Cancer Res* 2004; 64:2199-204.
12. Mashino K, Sadanaga N, Tanaka F, Yamaguchi H, Nagashima H, Inoue H, et al. Expression of multiple cancer-testis antigen genes in gastrointestinal and breast carcinomas. *Br J Cancer* 2001; 85:713-20.
13. Grigoriadis A, Caballero OL, Hoek KS, da Silva L, Chen YT, Shin SJ, et al. CT-X antigen expression in human breast cancer. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2009; 106:13493-98.
14. Curigliano G, Viale G, Ghioni M, Jungbluth AA, Bagnardi V, Spagnoli GC, et al. Cancer-testis antigen expression in triple-negative breast cancer. *Ann Oncol* 2011; 22:98-103.
15. Matkovic B, Juretic A, Spagnoli GC, Separovic V, Gamulin M, Separovic R, et al. Expression of MAGE-A and NY-ESO-1 cancer/testis antigens in medullary breast cancer: retrospective immunohistochemical study. *Croat Med J* 2011; 52:171-77.
16. Hussein YM, Gharib AF, Eteawa RL, El-Shal AS, Abdel-Ghany ME, Elsayy WH. The melanoma-associated antigen-A3, -A4 genes: relation to the risk and clinicopathological parameters in breast cancer patients. *Mol Cell Biochem* 2011; 351:261-68.
17. Russo V, Traversari C, Verrecchia A, Mottolese M, Natali PG, Bordinon C. Expression of the MAGE gene family in primary and metastatic human breast cancer: implications for tumor antigen-specific immunotherapy. *Int J Cancer* 1995; 64:216-21.
18. Parmigiani RB, Bettoni F, Vibranovski MD, Lopes MH, Martins WK, Cunha IW, et al. Characterization of a cancer/testis (CT) antigen gene family capable of eliciting humoral response in cancer patients. *Proc Natl Acad Sci USA* 2006; 103:18066-71.
19. Scanlan MJ, Simpson AJ, Old LJ. The cancer/testis genes: review, standardization, and commentary. *Cancer Immun* 2004; 4:1.