

# کاهش بیان ژن BACH2 در نمونه‌های پارافینه بافت سرطان پستان به عنوان یک تنظیم کننده رونویسی در سرطان

مسلم نوروزپور ممسنی<sup>۱</sup>، دکتر سمیه رئیسی<sup>۲\*</sup>، دکتر مریم پیمانی<sup>۳</sup>

۱. دانشجوی کارشناسی ارشد ژنتیک، دانشکده علوم، دانشگاه آزاد اسلامی واحد شهرکرد، شهرکرد، ایران.

۲. استادیار گروه ژنتیک، دانشکده علوم، دانشگاه شهرکرد، شهرکرد، ایران.

۳. استادیار گروه ژنتیک، دانشکده علوم، دانشگاه آزاد اسلامی واحد شهرکرد، شهرکرد، ایران.

تاریخ دریافت: ۱۳۹۶/۰۷/۱۱ تاریخ پذیرش: ۱۳۹۶/۱۰/۰۴

## خلاصه

**مقدمه:** سرطان پستان، یکی از دلایل اصلی مرگ‌ومیر در زنان می‌باشد. ژن BACH2 برای تنظیم تکوین و عملکرد انواع سلول‌های ایمنی (سلول B، T و ماکروفاژ) نیاز می‌باشد. ژن BACH2 یک لوکوس مستعد کننده غالب برای چندین بیماری خودایمن و آلرژی می‌باشد، با این وجود بیان و عملکرد بالقوه BACH2 در سرطان پستان هنوز مشخص نشده است، لذا مطالعه حاضر با هدف بررسی بیان ژنی BACH2 در نمونه‌های توموری پستان انجام شد.

**روش کار:** در این مطالعه مورد-شاهدی که برای بررسی بیان ژنی از بافت‌های پارافینه سرطان پستان استفاده شد، ۴۰ بافت پارافینه سرطان پستان و ۴۰ بافت سالم مجاور تهیه شده از بخش پاتولوژی بیمارستان الزهراء اصفهان وارد مطالعه شدند. نمونه‌ها مربوط به بلوک‌های پارافینه تهیه شده در طی سال‌های ۹۴-۱۳۹۳ بودند. پس از تکمیل رضایت‌نامه، اطلاعات بالینی مربوط به تمام نمونه‌ها گرفته شد. RNA تام استخراج و DNA مکمل (cDNA) سنتز شد. بیان نسبی ژن با استفاده از روش کمی real-time RT PCR (qRT-PCR) به دست آمد و به وسیله روش  $2^{-\Delta\Delta ct}$  ارزیابی شد. تجزیه و تحلیل داده‌ها با استفاده از نرم‌افزار آماری SPSS (نسخه ۲۲) و آزمون‌های تی تست و ANOVA انجام شد. میزان p کمتر از ۰/۰۵ معنی‌دار در نظر گرفته شد.

**یافته‌ها:** بیان ژن BACH2 در بافت توموری در مقایسه با بافت سالم مجاور به طور معنی‌داری کمتر بود ( $p < 0/05$ )، همچنین بیان این ژن در حالت متاستاز کاهش قابل ملاحظه‌ای نشان داد ( $p = 0/029$ ).

**نتیجه‌گیری:** بیان BACH2 در بافت توموری سرطان پستان نسبت به بافت سالم پایین‌تر است. با توجه به عملکرد ژن ذکر شده می‌توان برای آن نقش مهارکنندگی تومور در سرطان سینه را پیشنهاد داد. از طرف دیگر نتایج مطالعه کاهش بیان در نمونه‌های متاستاز مثبت را نشان می‌دهد که حاکی از نقش ژن در مهار مسیرهای درگیر در متاستاز می‌باشد.

**کلمات کلیدی:** تنظیم رونویسی، سرطان پستان، BACH2، Real-time PCR

\* نویسنده مسئول مکاتبات: دکتر سمیه رئیسی؛ دانشکده علوم، دانشگاه شهرکرد، شهرکرد، ایران. تلفن: ۰۳۸-۳۳۳۳۱۴۷۱؛ پست الکترونیک: s.reiisi@yahoo.com

## مقدمه

سرطان پستان، یک بیماری چند عاملی است و مجموعه‌ای از عوامل محیطی و ژنتیکی در ایجاد آن دخیل می‌باشند. این سرطان از شایع‌ترین بدخیمی‌ها و دومین علت مرگ در بین زنان در کشورهای توسعه یافته می‌باشد. این سرطان در حدود ۲۳٪ کل بدخیمی‌ها و ۱۴٪ علت‌های مرگ و میر ناشی از سرطان را شامل می‌شود (۱). مطابق با گزارشات سازمان جهانی بهداشت، فراوانی این سرطان در هر سال به میزان ۲٪ افزایش می‌یابد (۲). در ایران نیز این سرطان عامل حدود ۲۱٪ کل بدخیمی‌ها در زنان می‌باشد و نکته قابل توجه این است که زنان ایرانی حدوداً یک دهه زودتر دچار این بیماری می‌شوند و مطابق با گزارشات داده شده در میان زنان ایرانی، سرطان پستان در آنها به صورت خانوادگی و ژنتیکی بوده و این ریسک فاکتور در آنها بیشتر می‌باشد (۳). با وجود شیوع بالای بیماری، اگر در مراحل اولیه تشخیص داده شود، قابل درمان است. البته ارزش غربالگری در آن، متمرکز بر تشخیص به موقع است. هدف از غربالگری، تشخیص بیماری در زمانی است که هنوز به مرحله متاستاز نرسیده است. غربالگری به کمک ماموگرافی، سونوگرافی یا تصویربرداری رزونانس مغناطیسی (MRI<sup>1</sup>) میسر می‌شود (۴). همچنین مشخص شدن اساس مولکولی فرآیندهای درگیر در شروع و پیشرفت بدخیمی‌های مختلف و از جمله سرطان پستان در درمان مؤثر آنها ضروری است (۵). از طرف دیگر علاوه بر شناسایی مکانیسم بیماری، شناسایی مارکرهایی که بتواند در تشخیص زودتر بیماری کمک کنند، بسیار مفید خواهد بود. تومورمارکرها فاکتورهایی هستند که در خون، ادرار و یا بافت‌های بدن وجود دارند و با روش آزمایشگاهی قابل ردیابی هستند. تومورمارکرها توسط سلول‌های سرطانی و یا در اثر پاسخ بدن به سرطان تولید می‌شوند. افزایش یا کاهش و یا تغییر در این تومورمارکرها می‌تواند در انواع خاص سرطان متفاوت باشد و می‌توانند در شناسایی، تشخیص زودرس و انتخاب روش درمانی مناسب کارآمد باشند (۶). در سرطان پستان به دلیل هتروژن بودن بیماری و داشتن

انواع مختلفی از تومورها، شناسایی یک تومورمارکر که بتواند انواع مختلف سرطان را پوشش دهد بسیار مفید می‌باشد. برای بررسی در این زمینه در مطالعه حاضر، ژن BTB Domain And CNC) BACH2 Homolog 2) با این هدف انتخاب و بررسی شد. ژن BACH2 بر روی موقعیت کروموزومی 6q15 قرار دارد و دارای ۹ اگزون می‌باشد (۷). این ژن کد کننده یک پروتئین متصل شونده به DNA بوده و دارای دمین‌های میان‌کنش دهنده پروتئین- پروتئین می‌باشد (۸). ژن BACH2 در واقع یک فاکتور رونویسی را کد می‌کند که در دودمان‌های سلولی لنفوئیدی B به میزان زیادی بیان می‌شود (۹). این فاکتور رونویسی در القاء آپوپتوز نقش مهمی را بر عهده دارد. تغییر در بیان این ژن با بدخیمی‌های لنفوئیدی همراه می‌باشد و از دست دادن هتروزیگوسیتی در ژن در ۲۰٪ لنفوم‌های سلول B انسانی گزارش شده است (۱۰). از طرف دیگر در لوسمی‌هایی که از دست دادن هتروزیگوسیتی (LOH<sup>2</sup>) مشاهده نشد، مشخص شد که این ژن یک جایگاه برای ورود ویروس‌های درگیر در بیماری‌های انسانی می‌باشد. برای مثال ویروس اپشتین بار، در لنفوم بورکیت در لوکوس BACH2 وارد می‌شود (۱۱). همچنین مطالعات مختلف مشخص کرده‌اند که همکاری و عملکرد تعاونی BACH2 با دیگر فاکتورها می‌تواند در پیشبرد تمایز و تکثیر سلولی نقش مهمی داشته باشد. یکی از این فاکتورها، BCL6 می‌باشد که همراه با BACH2 یک تنظیم کننده کلیدی در سرزشت سلول‌های B می‌باشد (۱۲). BCL6 یک تنظیم کننده کلیدی در مرکز ژرمینال (GC<sup>3</sup>) که در درون فولیکول‌های سلول B در بافت‌های لنفوئیدی ثانویه قرار دارند، می‌باشد (۱۳). در درون GC سلول‌های B متحمل تولید کلونی، هایپرمتاسیون سوماتیکی و نوترکیبی می‌شوند. BCL6 در سلول‌های GC، همانندسازی سریع و تحمل آسیب-های ژنومی را تسهیل می‌کند. BCL6 برای عملکرد خود نیازمند همکاری با BACH2 می‌باشد (۱۴). فاکتور رونویسی دیگری که پروتئین BACH2 با آن

<sup>2</sup>Loss of heterozygosity<sup>3</sup>Germinal center<sup>1</sup>Magnetic resonance imaging

کیت، ابتدا پارافین‌زدایی انجام شد و سپس سایر مراحل استخراج بر روی بافت بدون پارافین انجام شد. برای بررسی کیفیت و کمیت RNAهای استخراج شده از دستگاه نانودراپ استفاده شد (Nanodrop 2000, Thermo Fisher Scientific, Wilmington, DE, USA). RNAهای به دست آمده تا انجام مراحل بعدی در دمای ۷۰- درجه سانتی‌گراد قرار گرفتند. در مرحله بعد DNA مکمل (cDNA) با استفاده از کیت سنتز (Takara, Clontech) تکثیر شد. دستورالعمل کیت شامل دو مرحله بود که مرحله اول اضافه کردن پرایمرهای Random Hexamer و oligo-dt و آزیب رپورس ترانسکریپتاز (Script RT Prime) و مرحله دوم انکوباسیون در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد به مدت ۱۵ دقیقه که به مدت ۵ ثانیه در دمای ۸۵ درجه سانتی‌گراد ادامه پیدا می‌کرد.

#### طراحی پرایمرها و بررسی بیان ژن با Real time PCR

طراحی پرایمر برای ژن‌های بتا اکتین (ENST00000331789.9) و BACH2 (ENST00000257749.8) طبق توالی به دست آمده از پایگاه Ensemble توسط نرم‌افزار Oligo V.7.0 انجام شد (جدول ۱). بررسی بیان ژن با روش qRT-PCR به وسیله دستگاه Rotor-gene 6000 (Qiagen, Hildn, Germany) انجام شد. واکنش برای ژن BACH2 و ژن رفرنس بتا اکتین در حجم ۲۰ میکرولیتر به مقدارهای: SYBR premix Ex taqII (Takara) IX، پرایمرهای پیشرو و معکوس (10pM) هر کدام به مقدار ۰/۲ میکرومولار، cDNA ۱۰ نانوگرم بر ماکرولیتر که با آب فاقد نوکلئاز به حجم مورد نظر رسید. دمای انجام واکنش در دستگاه به صورت زیر بود: دناتوراسیون اولیه ۹۵ درجه سانتی‌گراد به مدت ۱۰ دقیقه، ۴۰ سیکل واکنش تکثیر شامل ۱۵ ثانیه دناتوراسیون در دمای ۹۵ درجه سانتی‌گراد، ۲۰ ثانیه دمای اتصال پرایمرها در ۶۱ درجه سانتی‌گراد و دمای طولی‌سازی قطعات ۲۰ ثانیه در ۷۲ درجه سانتی‌گراد بود. مرحله ذوب<sup>۱</sup> برای محصولات در دمای ۹۵-۷۲

میانکش می‌کند، انکوژن MYC می‌باشد. پروتئین BACH2 می‌تواند تغییرات بدخیمی القاء شده توسط MYC را مهار کند. مطابق با گزارشات فراوان BACH2 به عنوان یک مهارکننده تومور در نظر گرفته می‌شود (۱۵). بنابراین می‌توان اینگونه فرض کرد که ژن BACH2 می‌تواند علاوه بر تومورهای لنفوئیدی و لوسمی‌ها در دیگر سرطان‌ها نیز به عنوان یک مارکر شناساگر عمل کند. تنها مطالعه انجام شده در این زمینه بر روی سرطان تخمدان بود که افزایش بیان آن را در این سرطان نشان داده شده است (۱۶)، اما این فاکتور در مورد سایر سرطان‌ها از جمله سرطان پستان هنوز مورد بررسی قرار نگرفته است. بنابراین مطالعه حاضر با هدف بررسی بیان ژن BACH2 در بافت‌های پارافینه سرطان پستان و مقایسه میزان بیان آن با بافت سالم مجاور و همچنین بررسی ارتباط بیان ژن با فاکتورهای بالینی مختلف انجام شد.

#### روش کار

در مطالعه حاضر برای بررسی بیان ژنی از بافت‌های پارافینه سرطان پستان استفاده شد. در این مطالعه که به صورت مورد-شاهدی انجام شد، ۴۰ بافت توموری سرطان پستان و ۴۰ بافت غیرتوموری مجاور آن انتخاب شدند. انتخاب تعداد و شرایط نمونه‌ها با توجه به منابع معتبر علمی و مقالات مشابه بود. بافت‌های مورد نظر از بخش پاتولوژی بیمارستان الزهراء اصفهان تهیه شدند. برای آزمایشات مولکولی از بلوک‌های پارافینه برش‌های ۱۰ میکرومتری تهیه و در میکروتیوپ‌های ۲ سی سی استریل قرار داده شد. نمونه‌ها تا زمان انجام آزمایشات مولکولی در دمای ۲۰- درجه سانتی‌گراد نگهداری شدند. از تمام بیماران در دسترس فرم رضایت‌نامه گرفته شد و علاوه بر سن، اطلاعات پاتولوژی و بالینی بیماران مانند اندازه تومور، مناساز و درجه توموری نیز برای هر نمونه مشخص شد.

#### استخراج RNA و سنتز cDNA

RNA کل سلولی با استفاده از کیت استخراج MN (NucleoSpintotalRNA FFPE-Germany) و بر اساس دستورالعمل کیت انجام شد. مطابق با روش

<sup>1</sup>Melting

نمونه‌های توموری و غیرتوموری و بررسی گروه‌های سنی، اندازه تومور و متاستاز از آزمون آماری تی تست و جهت سنجش درجه توموری و ارتباط با میزان بیان ژن از آزمون ANOVA استفاده شد. میزان  $p$  کمتر از ۰/۰۵ معنی‌دار در نظر گرفته شد. برای رسم نمودارها از نرم‌افزار GraphPad Prism 7 استفاده شد.

درجه سانتی‌گراد انجام شد. برای تجزیه تحلیل داده‌های حاصل از واکنش، از روش  $2^{-\Delta\Delta ct}$  استفاده شد و سپس الگوی بیانی توسط آنالیزهای آماری بررسی شد. داده‌ها پس از گردآوری با استفاده از نرم‌افزار آماری SPSS (نسخه ۲۲) مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفتند. جهت تعیین معنی‌دار بودن میزان بیان ژن‌ها در

جدول ۱- توالی‌های پرایمرهای استفاده شده در مطالعه

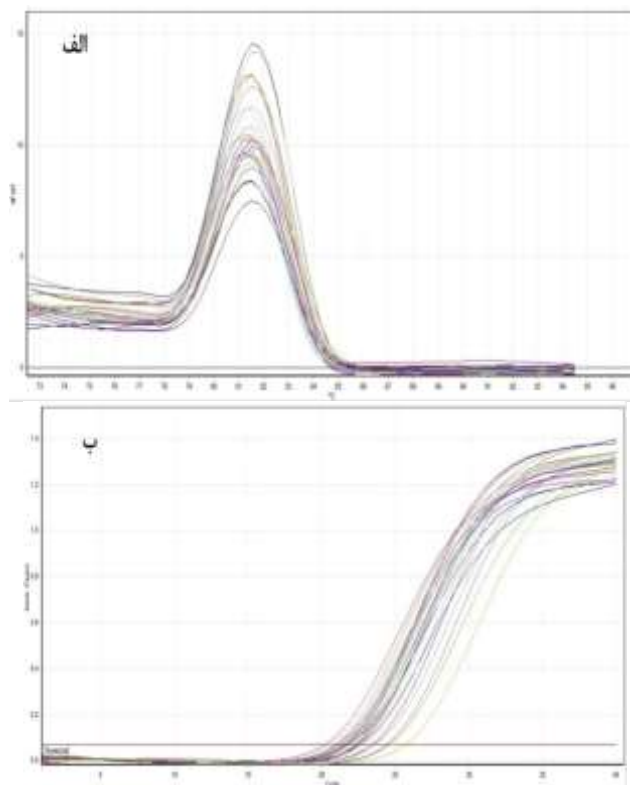
نام ژن	توالی 5'-3'	اندازه محصول (bp)
بتا اکتین	F: AGAGCTACGAGCTGCCTGAC R: AGCACTGTGTTGGCGTACAG	۱۸۴
BACH2	F: AATCCGCAAATTGGTGTGTGAG R: GAGGACAGGGCAATACCGATG	۱۱۶

نسبت به غیرتوموری بر اساس نتایج آزمون تی، میانگین بیان نسبی ژن *BACH2* در نمونه‌های توموری نسبت به سالم به میزان ۲/۳۸ برابر پایین‌تر بود و اختلاف بسیار معناداری بین آنها وجود داشت ( $p=0/0001$ ) (شکل ۲). در بررسی ارتباط میان بیان نسبی ژن *BACH2* و میزان متاستاز به گره‌های لنفی مشخص شد که بیان ژن در تومورهای متاستاز دهنده به میزان قابل توجهی کاهش یافته بود (۱/۸۷ برابر) و از نظر آماری ارتباط معناداری میان بیان ژن و متاستاز توموری مشاهده شد ( $p=0/029$ ) (شکل ۳-الف). برای مشخص کردن ارتباط بیان ژنی با اندازه تومور، نمونه‌ها به دو دسته اندازه تومور ۳ و کوچک‌تر از ۳ و بزرگ‌تر از ۳ تقسیم شدند. در این بررسی کاهش بیان در اندازه توموری کوچک‌تر از ۳ مشخص شد، اما از نظر آماری هیچ ارتباط معناداری بین آنها مشاهده نشد ( $p=0/66$ ) (شکل ۳-ب). در بررسی ارتباط بین سن و میزان بیان ژن *BACH2* در افراد ۴۵ سال و بالاتر، کاهش بیان ژن قابل مشاهده بود، اما از نظر آماری اختلاف معناداری میان دو گروه سنی زیر ۴۵ سال و بالای ۴۵ سال مشاهده نشد ( $p=0/28$ ) (شکل ۳-ج). برای مشخص کردن همراهی بین بیان ژن و درجه توموری از آزمون ANOVA استفاده شد و کاهش آشکار در میزان بیان *BACH2* در درجه توموری ۱ مشاهده شد، ولی ارتباط معناداری بین میزان بیان ژن و درجه توموری ۱، ۲ و ۳ مشاهده نشد ( $p=0/31$ ) (شکل ۳-د).

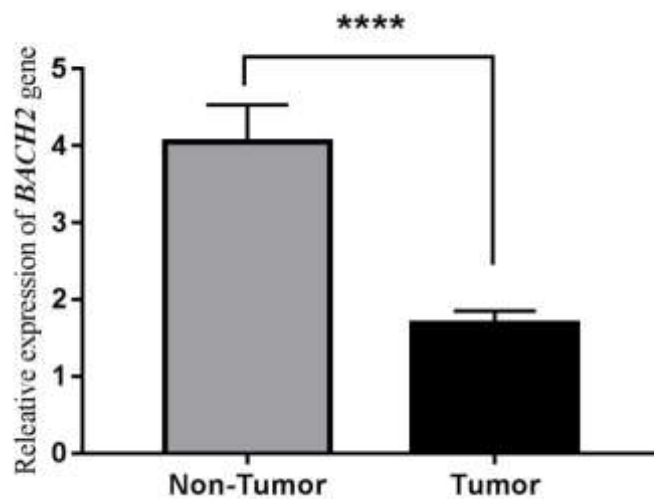
## یافته‌ها

در این مطالعه ۴۰ بافت توموری سرطان پستان به همراه ۴۰ بافت سالم مجاور آن بررسی شدند. نمونه‌ها مربوط به بلوک‌های پارافینه تهیه شده بیماران در طی سال‌های ۹۴-۱۳۹۳ با میانگین سنی  $46/95 \pm 1/42$  سال (سطح اطمینان ۹۵٪) بودند. در نمونه‌های مورد بررسی، ۱۷ نمونه (۴۲/۵٪) دارای اندازه تومور ۳ سانتی‌متر و کوچک‌تر بودند و در تعداد ۲۳ نمونه (۵۷/۵٪) اندازه تومور بیشتر از ۳ سانتی‌متر بود. ۲۵ نمونه (۶۲/۵٪) دچار متاستاز به گره‌های لنفی شده بودند و ۱۵ نمونه (۳۷/۵٪) فاقد متاستاز بودند. همچنین در بررسی درجه توموری نمونه‌ها مشخص شد که ۸ نمونه (۲۰٪) دارای گرید<sup>۱</sup> توموری برابر با ۱، ۲۱ نمونه (۵۲/۵٪) در گرید ۲ و ۱۱ نمونه (۲۷/۵٪) در گرید ۳ قرار داشتند. جهت بررسی بیان ژن از روش qRT-PCR استفاده شد که منحنی ذوب ژن رفرنس (بتا اکتین) و ژن اختصاصی (*BACH2*) به صورت تک قله به دست آمد. شکل ۱ الف، نمودار ذوب مربوط به ژن اختصاصی را نشان می‌دهد. پس از به دست آوردن اطمینان از اختصاصی بودن محصول و بهینه بودن شرایط واکنش، واکنش‌های Real time RT-PCR برای تمامی تمام نمونه‌ها انجام شد. بررسی منحنی تکثیر نشان دهنده تکثیر نمایی قطعه مورد نظر با منحنی ذوب یکسان برای تمام نمونه‌ها بود (شکل ۱-ب). در مقایسه نمونه‌های توموری

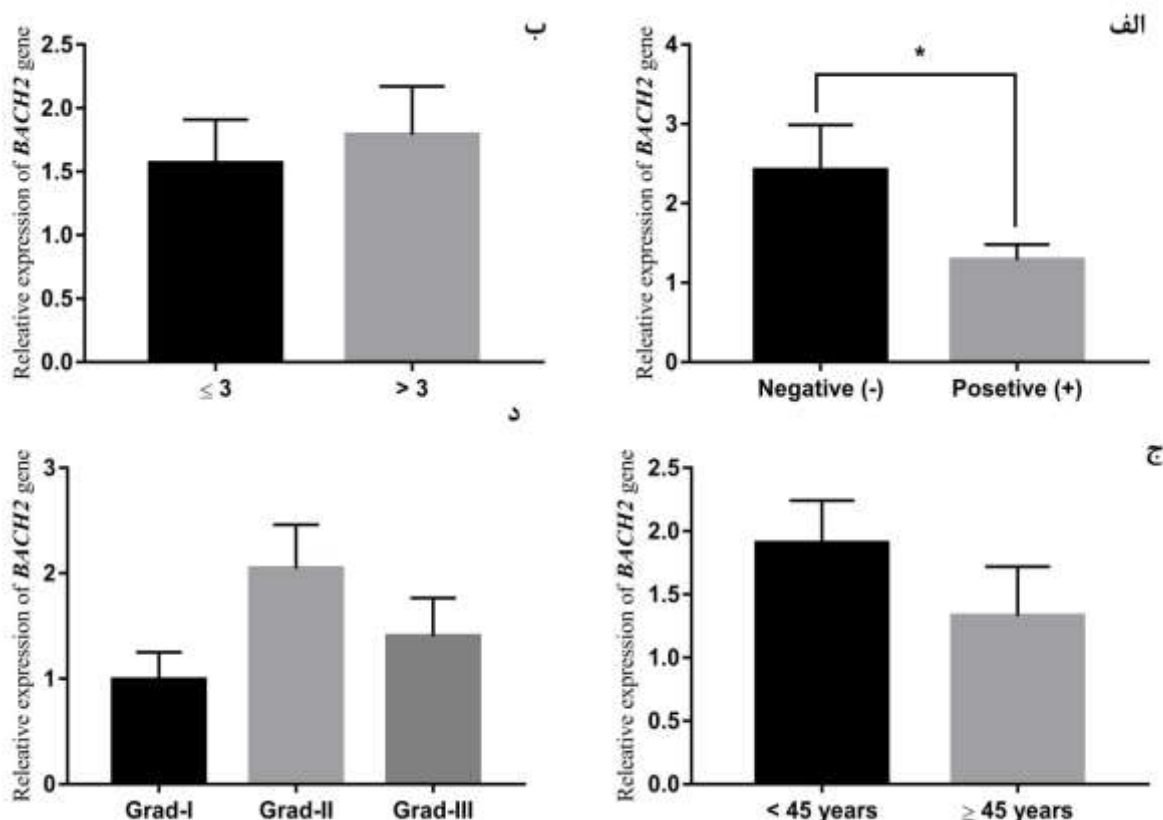
<sup>1</sup>Grade



شکل ۱- الف) نمودار ذوب ژن  $BACH2$ . وجود یک قله در نمودار به معنی اختصاصی بودن پرایمرها می‌باشد. ب) نمودارهای تکثیر ژن  $BACH2$



شکل ۲- نمودار مقایسه میانگین میزان بیان ژن  $BACH2$  در نمونه‌های توموری و غیر توموری مجاور آن



شکل ۳- نمودار ستونی مقایسه میزان بیان نسبی ژن *BACH2* در الف) بافت‌های با متاستاز منفی و مثبت، ب) اندازه توموری در تومورهای با اندازه مساوی ۳ و کوچک‌تر و بزرگ‌تر از ۳ ج) گروه‌های سنی زیر ۴۵ و برابر ۴۵ سال و بالای آن، د) درجه توموری

### بحث

ایمنی ذاتی و اکتسابی دارای عملکرد می‌باشد (۷). در سلول‌های B، ژن *BACH2* برای نوترکیبی سوئیچ کلاس‌های آنتی‌بادی و هایپرمتاسیونی سوماتیکی ضرورت دارد و عدم این ژن، باعث نقص در نوترکیبی آنتی‌بادی‌ها می‌شود (۱۰). در سلول‌های  $T CD4+$  و ماکروفاژها، *BACH2* برای تکوین نرمال و عملکرد درست این سلول‌ها ضروری می‌باشد (۲۱). علاوه بر نقش این ژن در تنظیم و تکوین عملکرد سلول‌های مختلف سیستم ایمنی، *BACH2* یک لوکوس مستعد کننده برای چندین بیماری خودایمن و آلرژیک می‌باشد (۲۲)، (۲۳). بنابراین *BACH2* در انواعی از دودمان‌های سلولی عمل می‌کند که می‌توانند در پیشرفت و یا مهار پاسخ-های ایمنی بر علیه سرطان درگیر باشند، اما این عملکرد در کنترل ایمنی تومور به خوبی مشخص نشده است (۲۴، ۲۵). در مطالعه حاضر نقش ژن *BACH2* در سرطان پستان مورد بررسی قرار گرفت و نتایج نشان داد که *BACH2* به‌طور قابل توجهی در نمونه‌های بافتی سرطان پستان نسبت به بافت سالم مجاور کاهش بیان

سرطان پستان شایع‌ترین بدخیمی در زنان می‌باشد و وراثت و محیط هر دو در آن تأثیرگذار می‌باشند. از این رو شناخت عوامل و مکانیسم‌های درگیر در بیماری می‌تواند در تشخیص، پیش‌آگهی، ملاحظات بالینی و انتخاب روش درمانی مفید باشد (۱۷). از طرف دیگر، سرطان پستان یک بیماری هتروژن می‌باشد و ژن‌های زیادی در آن درگیر هستند. درگیر بودن هر ژن خاص، در بیماری می‌تواند تومورهایی را ایجاد کند که از نظر ویژگی‌های زیست‌شناسی با هم متفاوت باشند و نتایج درمانی و بالینی متفاوتی را طلب کنند (۱۸). به علاوه بر اساس مطالعات انجام شده، این فاکتورها می‌توانند به عنوان هدف‌های درمانی نیز به کار روند (۱۹). ژن *BACH2* یکی از عواملی می‌باشد که نقش آن در لوسمی و سرطان تخمدان به صورت جزئی مشخص شده است (۱۶، ۲۰). این ژن بر روی بازوی بزرگ کروموزوم شماره ۶ قرار دارد. *BACH2* یک فاکتور رونویسی ۹۲ کیلودالتونی از خانواده زیپ لوسینی بازی می‌باشد و در

انکوژن در لوسمی حامل ترانسلوکاسیون کروموزومی عمل می‌کند. در این بدخیمی ژن *BACH2* در مجاورت لوکوس IgH قرار می‌گیرد (۳۰). از طرف دیگر افزایش بیان *BACH2* در برخی از لاین‌های سلولی لنفوما غیرهوچکینی که حامل ترانسلوکاسیون *Ig-Myc* هستند، گزارش شده است (۳۰). در مورد سرطان تخمدان نیز افزایش بیان در این ژن با پیش‌آگهی پایین در افراد بیمار همراه می‌باشد. در مطالعه این ژن در سرطان تخمدان مشخص شد که بیان *BACH2* سیتوپلاسمی در این بیماری افزایش می‌یابد که با افزایش سطح *BACH2* هسته‌ای همراه می‌باشد و دوره عود بیماری در این حالت کاهش می‌یابد (۱۶). *BACH2* یک مهارکننده رونویسی تنظیم شونده با استرس اکسیداتیو می‌باشد و می‌تواند بیان گلوکوتیون، گلوکوتیون S- ترانسفراز و متالوتینین‌ها را تعدیل کند. سلول‌های فیبروبلاستی موشی که دارای افزایش بیان *BACH2* هستند، هنگامی که با استرس اکسیداتیو مواجه می‌شوند، کاهش تکثیر و افزایش در آپوپتوز را نشان می‌دهند (۳۱). با این وجود، چنین مطالعاتی یک نقش ضدانکوژنی برای بیان بالای *BACH2* را حدس می‌زنند و وجود دمین *BTB/POZ* در پروتئین *BACH2* که با دیگر پروتئین‌ها می‌تواند برهمکنش داشته باشد، چنین فعالیتی را بهبود می‌بخشد (۳۲). برای مثال فاکتور وابسته به *MAZ* با *BACH2* میانکنش می‌کند تا بیان *c-myc* و *FGF4* را حداقل در سلول‌های خون‌ساز فعال کند (۳۳). افزایش بیان *c-myc* می‌تواند به کاهش پاسخ به عملکرد مهارشده  $TGF-\beta$  در سرطان پستان نسبت داده شود؛ به طوری که این مورد در سرطان تخمدان نیز مشاهده شده است. در سرطان تخمدان، افزایش سطح *BACH2* سیتوپلاسمی در حالت اپی‌تلیوم خوش‌خیم مشاهده می‌شود و سیگنال‌هایی مانند استرس اکسیداتیو در انتقال هسته‌ای این فاکتور رونویسی نقش دارد (۱۶). در حال حاضر اهمیت کامل تغییر بیان ژن *BACH2* در سرطان پستان ناشناخته است. با توجه به مطالعات ایمنو‌هیستوشیمی بر روی دیگر سلول‌ها

دارد و همچنین با توجه به مطالعه حاضر می‌توان بیان کرد که میزان متاستاز با تراز بیان ژن *BACH2* رابطه عکس دارد و در حالت متاستاز در سرطان پستان بیان ژن به مقدار زیادی کاهش می‌یابد که این نتایج با نتایج سایر مطالعات مطابقت دارد (۱۲، ۲۶). کاهش بیان ژن در حالت متاستاز می‌تواند ارتباط ژن را در تزايد و تکثیر سلول‌ها و از طرف دیگر کاهش آپوپتوز در سلول‌های سرطانی را مشخص کند، اما در نتایج حاصله، ارتباطی میان بیان ژن با اندازه و درجه توموری مشاهده نشد. البته به دلیل مشخص نشدن عملکرد این ژن در سلول، بحث در این مورد امکان‌پذیر نمی‌باشد. در بررسی ارتباط سن، کاهش بیان ژن در افراد بالای ۴۵ سال مشاهده شد، بنابراین فاکتور مورد نظر می‌تواند به عنوان یک بیومارکر آگاهی‌دهنده در افراد بیمار با سن بالا مورد توجه قرار گیرد. نکته قابل توجه در این مطالعه این است که تنها مطالعات انجام شده در مورد این ژن بعد از سرطان خون، مطالعه بر روی سرطان تخمدان می‌باشد و هنوز مکانیسم عملکرد این ژن مشخص نشده است، بنابراین بحث در مورد عملکرد ژن در قسمت‌های مختلف بررسی بسیار مشکل می‌باشد.

*BACH2* در بدخیمی‌های مختلف هم به عنوان مهارکننده تومور و هم به عنوان انکوژن عمل می‌کند. پروتئین *BCR-ABL* که در لوسمی میلوئید مزمن بیان می‌شود، مسیرهای سیگنال‌دهی را فعال می‌کند که منجر به افزایش فسفریلاسیون و خروج *BACH2* از هسته می‌شود، که نتیجه آن، کاهش مقاومت سلول به استرس اکسیداتیو و افزایش مرگ سلولی می‌باشد (۲۷). *BACH2* همچنین نقش مهمی را در تنظیم پاسخ‌های سلولی به استرس اکسیداتیو بازی می‌کند، به صورتی که سبب مهار رونویسی هم‌اکسیژناز-۱ ( $HO-1$ ) با عملکرد ضد آپوپتوزی بر علیه آسیب‌های اکسیداتیو، شده و در نتیجه القاء آپوپتوز را کنترل می‌کند (۲۸). بیان ژنی *HO-1* در برخی از بدخیمی‌ها بسیار بالاست و سبب مقاومت سلول‌های میلوما به آپوپتوز القاء شده با اکسیژن فعال همراه با کاهش *BACH2* و افزایش *HO-1* می‌شود (۲۹). در مقابل نقش مهارکنندگی تومور، *BACH2* به عنوان یک

و نقص در آپوپتوز نسبت داده شود. در سایر موارد مانند ارتباط با سن و درجه و اندازه توموری، ارتباطی بین بیان ژن و فاکتورهای مشخص شده مشاهده نشد، اما با این همه نقش این ژن در سرطان به خوبی مشخص نشده است. در نتیجه به نظر می‌رسد انجام مطالعات تکمیلی جهت تعیین مکانیسم دقیق آن در سرطان‌های مختلف و از جمله سرطان پستان ضروری باشد.

### تشکر و قدردانی

این مقاله منتج از پایان‌نامه کارشناسی ارشد آقای مسلم نوروزپور ممسنی می‌باشد. بدین‌وسیله از تمامی افرادی که ما را در انجام این مطالعه یاری دادند، به ویژه از بیمارانی که در مرحله نمونه‌گیری با ما همکاری نمودند، تشکر و قدردانی می‌شود.

این نتیجه حاصل می‌شود که ایزوفرم‌های مختلف BACH2 در بخش‌ها و اندامک‌های مختلف سلول متمرکز هستند، جایی که در فرآیندهای سلولی متمایز از تنظیم رونویسی شرکت می‌کنند. بنابراین در مطالعات بعدی بر روی این ژن، بررسی ایزوفرم‌های مختلف این ژن در اندامک‌ها و مناطق مختلف سلول ضروری می‌باشد.

### نتیجه‌گیری

میزان بیان ژن BACH2 در سرطان پستان نسبت به بافت غیرتوموری مجاور کاهش بیان مشخصی داشته و همچنین در نمونه‌های با متاستاز به گره‌های لنفی نیز نسبت به نمونه‌های بدون متاستاز کاهش بیان معناداری در ژن مشاهده شد. کاهش بیان ژن در حالت متاستاز می‌تواند به عدم تنظیم در تکثیر و تزاید سلولی

### منابع

- 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.
- Parkin DM, Bray F, Ferlay J, Pisani P. Global cancer statistics, 2002. *CA Cancer J Clin* 2005; 55(2):74-108.
- Karami F, Mehdipour P. A comprehensive focus on global spectrum of BRCA1 and BRCA2 mutations in breast cancer. *BioMed Res Int* 2013; 2013:928562.
- Novak E. Berek & Novak's gynecology. 14<sup>th</sup> ed. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins; 2007.
- Vuong D, Simpson PT, Green B, Cummings MC, Lakhani SR. Molecular classification of breast cancer. *Virchows Arch* 2014; 465(1):1-14.
- Dunn BK, Wagner PD, Anderson D, Greenwald P. Molecular markers for early detection. *Semin Oncol* 2010; 37(3):224-42.
- Sasaki S, Ito E, Toki T, Maekawa T, Kanezaki R, Umenai T, et al. Cloning and expression of human B cell-specific transcription factor BACH2 mapped to chromosome 6q15. *Oncogene* 2000; 19(33):3739-49.
- Oyake T, Itoh K, Motohashi H, Hayashi N, Hoshino H, Nishizawa M, et al. Bach proteins belong to a novel family of BTB-basic leucine zipper transcription factors that interact with MafK and regulate transcription through the NF-E2 site. *Mol Cell Biol* 1996; 16(11):6083-95.
- Muto A, Hoshino H, Madisen L, Yanai N, Obinata M, Karasuyama H, et al. Identification of Bach2 as a B-cell-specific partner for small Maf proteins that negatively regulate the immunoglobulin heavy chain gene 3' enhancer. *EMBO J* 1998; 17(19):5734-43.
- Muto A, Ochiai K, Kimura Y, Itoh-Nakadai A, Calame KL, Ikebe D, et al. Bach2 represses plasma cell gene regulatory network in B cells to promote antibody class switch. *EMBO J* 2010; 29(23):4048-61.
- Takakuwa T, Luo WJ, Ham MF, Sakane-Ishikawa F, Wada N, Aozasa K. Integration of Epstein-Barr virus into chromosome 6q15 of Burkitt lymphoma cell line (Raji) induces loss of BACH2 expression. *Am J Pathol* 2004; 164(3):967-74.
- Ci W, Polo JM, Cerchietti L, Shakhovich R, Wang L, Yang SN, et al. The BCL6 transcriptional program features repression of multiple oncogenes in primary B cells and is deregulated in DLBCL. *Blood* 2009; 113(22):5536-48.
- Klein U, Dalla-Favera R. Germinal centres: role in B-cell physiology and malignancy. *Nat Rev Immunol* 2008; 8(1):22-33.
- Huang C, Geng H, Boss I, Wang L, Melnick A. Cooperative transcriptional repression by BCL6 and BACH2 in germinal center B-cell differentiation. *Blood* 2014; 123(7):1012-20.
- Ichikawa S, Fukuhara N, Katsushima H, Takahashi T, Yamamoto J, Yokoyama H, et al. Association between BACH2 expression and clinical prognosis in diffuse large B-cell lymphoma. *Cancer Sci* 2014; 105(4):437-44.





16. Motamed-Khorasani A, Jurisica I, Letarte M, Shaw P, Parkes R, Zhang X, et al. Differentially androgen-modulated genes in ovarian epithelial cells from BRCA mutation carriers and control patients predict ovarian cancer survival and disease progression. *Oncogene* 2007; 26(2):198-214.
17. Stephens PJ, Tarpey PS, Davies H, Van Loo P, Greenman C, Wedge DC, et al. The landscape of cancer genes and mutational processes in breast cancer. *Nature* 2012; 486(7403):400-4.
18. Shah R, Rosso K, Nathanson SD. Pathogenesis, prevention, diagnosis and treatment of breast cancer. *World J Clin Oncol* 2014; 5(3):283-98.
19. DeSantis CE, Lin CC, Mariotto AB, Siegel RL, Stein KD, Kramer JL, et al. Cancer treatment and survivorship statistics, 2014. *CA Cancer J Clin* 2014; 64(4):252-71.
20. Ono A, Kono K, Ikebe D, Muto A, Sun J, Kobayashi M, et al. Nuclear positioning of the BACH2 gene in BCR-ABL positive leukemic cells. *Genes Chromosomes Cancer* 2007; 46(1):67-74.
21. Kim EH, Gasper DJ, Lee SH, Plisch EH, Svaren J, Suresh M. Bach2 regulates homeostasis of Foxp3+ regulatory T cells and protects against fatal lung disease in mice. *J Immunol* 2014; 192(3):985-95.
22. Pazderska A, Oftedal BE, Napier CM, Ainsworth HF, Husebye ES, Cordell HJ, et al. A variant in the BACH2 gene is associated with susceptibility to autoimmune addison's disease in humans. *J Clin Endocrinol Metab* 2016; 101(11):3865-9.
23. Herbaux C, Bertrand E, Marot G, Roumier C, Poret N, Soenen V, et al. BACH2 promotes indolent clinical presentation in Waldenström macroglobulinemia. *Oncotarget* 2016; 8(34):57451.
24. International Multiple Sclerosis Genetics Consortium; Wellcome Trust Case Control Consortium 2, Sawcer S, Hellenthal G, Pirinen M, Spencer CC, et al. Genetic risk and a primary role for cell-mediated immune mechanisms in multiple sclerosis. *Nature* 2011; 476(7359):214-9.
25. Ferreira MA, Matheson MC, Duffy DL, Marks GB, Hui J, Le Souëf P, et al. Identification of IL6R and chromosome 11q13.5 as risk loci for asthma. *Lancet* 2011; 378(9795):1006-14.
26. Ochiai K, Muto A, Tanaka H, Takahashi S, Igarashi K. Regulation of the plasma cell transcription factor Blimp-1 gene by Bach2 and Bcl6. *Int Immunol* 2008; 20(3):453-60.
27. Yoshida C, Yoshida F, Sears DE, Hart SM, Ikebe D, Muto A, et al. Bcr-Abl signaling through the PI-3/S6 kinase pathway inhibits nuclear translocation of the transcription factor Bach2, which represses the antiapoptotic factor heme oxygenase-1. *Blood* 2007; 109(3):1211-9.
28. Hara E, Takahashi K, Tominaga T, Kumabe T, Kayama T, Suzuki H, et al. Expression of heme oxygenase and inducible nitric oxide synthase mRNA in human brain tumors. *Biochem Biophys Res Commun* 1996; 224(1):153-8.
29. Zhou P, Kalakonda N, Comenzo RL. Changes in gene expression profiles of multiple myeloma cells induced by arsenic trioxide (ATO): possible mechanisms to explain ATO resistance in vivo. *Br J Haematol* 2005; 128(5):636-44.
30. Kobayashi S, Taki T, Chinen Y, Tsutsumi Y, Ohshiro M, Kobayashi T, et al. Identification of IGHC $\delta$ -BACH2 fusion transcripts resulting from cryptic chromosomal rearrangements of 14q32 with 6q15 in aggressive B-cell lymphoma/leukemia. *Genes Chromosomes Cancer* 2011; 50(4):207-16.
31. Muto A, Tashiro S, Tsuchiya H, Kume A, Kanno M, Ito E, et al. Activation of Maf/AP-1 repressor Bach2 by oxidative stress promotes apoptosis and its interaction with promyelocytic leukemia nuclear bodies. *J Biol Chem* 2002; 277(23):20724-33.
32. Swaminathan S, Duy C, Müschen M. BACH2-BCL6 balance regulates selection at the pre-B cell receptor checkpoint. *Trends Immunol* 2014; 35(3):131-7.
33. Kobayashi A, Yamagiwa H, Hoshino H, Muto A, Sato K, Morita M, et al. A combinatorial code for gene expression generated by transcription factor Bach2 and MAZR (MAZ-related factor) through the BTB/POZ domain. *Mol Cell Biol* 2000; 20(5):1733-46.