Original article

Evaluation of *CCND1* and *ITGB1* genes expression in patients with breast cancer

Gholipour Maralan F[1] , Zare Karizi Sh [1,*], Ebrahim Zadeh M [2]

1. Department of Genetic, Faculty of Biology, Varamin-Pishva Branch, Islamic Azad University, Varamin, Iran
2. Department of Biology, Faculty of Biology, Varamin-Pishva Branch, Islamic Azad University, Varamin, Iran

***Corresponding author**: e-mail: Shohrehzare@yahoo.com

Received: 9/27/2021 Accepted:10/20/2021

Abstract

Breast cancer is one of the most common type of cancers known and the second cause of cancer-related death in women. Therefore, evaluating the molecular mechanisms is of crucial importance in this respect. In this study, the *CCND1* and *ITGB1* gene expression has been evaluated in 30 patients with breast cancer. RNA was extracted from the tumor tissue and the normal margin of 30 patients with breast cancer. After cDNA synthesis and designing primer for *CCND1* and *ITGB1* genes, expression of these genes were analyzed using real-time PCR. In order to analyze data, $2^{-\Delta\Delta ct}$ formula was used and the significance of expression was also evaluated by T-test ($P \leq 0.05$). The *CCND1* and *ITGB1* genes demonstrated a significance expression increase in breast cancer tumor samples compared to adjacent normal samples ($P < 0.0001$). The expression of *CCND1 and ITGB1* genes which have crucial role controlling the cell cycle, have a direct relation with the progress of cancer. Confirmation of these results requires further research.

Keywords: Gene expression, *CCND1*, *ITGB1*, quantitative real-time PCR method, Breast cancer.

مقاله تحقیقی

ارزیابی بیان ژن های *CCND1* و *ITGB1* در بیماران مبتلا به سرطان پستان

فرنام قلی‌پور مارالان[۱]، شهره زارع کاریزی[۱]*، محمد ابراهیم زاده[۲]

۱. گروه ژنتیک، دانشکده علوم زیستی، واحد ورامین – پیشوا، دانشگاه آزاد اسلامی، ورامین – پیشوا، ایران
۲. گروه زیست شناسی، دانشکده علوم زیستی، واحد ورامین – پیشوا، دانشگاه آزاد اسلامی، ورامین- پیشوا، ایران

***مسئول مکاتبات:** ایمیلshohrehzare@yahoo.com

محل انجام تحقیق: گروه ژنتیک دانشگاه آزاد اسلامی واحد ورامین - پیشوا

تاریخ دریافت: ۱۴۰۰/۷/۵ تاریخ پذیرش:۱۴۰۰/۷/۲۸

چکیده

سرطان پستان یکی از شایع‌ترین سرطان‌های شناخته شده و دومین علت مرگ و میر مرتبط با سرطان زنان در سراسر دنیا می‌باشد. لذا بررسی مکانیسم‌های مولکولی دخیل در پیشرفت آن حائز اهمیت است. در مطالعه حاضر میزان بیان ژنهای *CCND1* و *ITGB1* در ۳۰ بیمار مبتلا به سرطان پستان بررسی گردیده است. استخراج RNA از بافت توموری و نرمال مجاور ۳۰ بیمار مبتلا به سرطان پستان انجام شد. پس از سنتز cDNA و طراحی پرایمر برای ژن‌های *CCND1* و *ITGB1*، بیان ژن‌های مذکور با روش Real time-PCR ارزیابی شد. به منظور آنالیز داده‌ها نیز از فرمول $2^{-\Delta\Delta ct}$ استفاده شد و معنادار بودن داده‌ها نیز براساس آزمون T-test($P \leq 0.05$) ارزیابی شد. بیان ژن‌های *CCND1* و *ITGB1* در نمونه های بافت‌های توموری افزایش معناداری را در مقایسه با نمونه‌های نرمال نشان دادند ($P<0.0001$). بیان بالای ژن‌های *CCND1* و *ITGB1* که نقش اصلی را در کنترل چرخه سلولی دارند با پیشرفت سرطان رابطه مستقیمی دارند. تایید این نتایج نیازمند مطالعات بیشتر می‌باشد.

کلمات کلیدی: بیان ژن، *CCND1*، *ITGB1*، سرطان پستان، Real Time-PCR

مقدمه

بر اساس پروفایل ارائه شده توسط سازمان جهانی بهداشت در سال ۲۰۱۹، از تعداد کل جمعیت ثبت شده ۷۶۷۶۹۶۵۵۰۰ نفر جمعیت کل جهان، مرگ و میر ناشی از سرطان ۱۸۰۷۸۹۵۷ مورد بوده که در این میان، مرگ و میر ناشی از سرطان پستان ۹۵۵۵۰۲۷ بیمار بود. همچنین در این میان سرطان پستان با ۱۱/۶ درصد شایع‌ترین سرطان بوده ولیکن آمار مرگ و میر آن با ۶/۶ درصد، اختلاف زیادی با سرطان ریه با بیشترین میزان تلفات با ۱۸/۴ درصد داشت. لذا سرطان پستان یکی از شایع‌ترین سرطان ها در بین زنان و یکی از مهمترین عوامل نگران کننده سلامتی زنان در جهان می‌باشد (۲،۱).

سرطان پستان از نظر ویژگی‌های بالینی، به سه دسته سرطان لوبولار درجا [۱] (LCIS)، کارسینوم غیر مهاجم مجرای پستان [۲](DCIS) و کارسینوم مهاجم پستان[۳] تقسیم می‌شود. همچنین سرطان پستان به چندین زیرگونه مولکولی نیز تقسیم می‌شود. زیرگونه‌های لومینال A و B که ER مثبت هستند و از لحاظ بافت‌شناسی به ترتیب درجه کم و درجه زیاد می‌باشند و زیرگونه *HER2*

1. Lobular Carcinoma In Situ
2. Ductal Carcinoma In Situ
3. Invasive Carcinoma

مثبت که با بیان بالای ژن *HER2* همراه است و زیرگونه basal-like یا Triple negative، که ER (گیرنده استروژن)، PR (گیرنده پروژسترون) و *HER2* منفی بوده و بنابراین به هیچ یک از درمان‌ها پاسخ نمی‌دهد (۳).

سرطان پستان تحت تأثیر فاکتورهای ژنتیکی، هورمونی، تولید مثلی و نیز شیوه زندگی و خصوصیات محیطی می‌باشد. از مهمترین فاکتورهای خطر در سرطان پستان می‌توان سن، جنس، اولین بارداری کامل، سابقه خانوادگی سرطان، استروژن، مدت زمان شیردهی، اولین سن قاعدگی، سن شروع یائسگی و سقط جنین را نام برد. همچنین، سرطان پستان معمولا درمان موثر و مشخصی ندارد ولی در صورت تشخیص در مراحل اولیه سرطان، میتواند روش‌هایی مانند جراحی، شیمی درمانی، هورمون درمانی و درمان‌های مکمل را اشاره کرد (۴،۵).

در مورد ژن‌های دخیل در سرطان پستان، ژن‌های *BRCA1* و *BRCA2* به عنوان مستعدترین ژن‌های ابتلاء به سرطان پستان شناخته شده‌اند و چندین عملکرد سلولی دارند که نقش حیاتی در ترمیم DNA هومولوگ یکی از آنها می‌باشد. همچنین پروتئین‌های *BRCA1* و *BRCA2* نقش حیاتی در ترمیم DNA دورشته‌ای شکسته شده دارند که این فرآیند توسط فرآیند نوترکیبی هومولوگ اصلاح می‌شود (۶). علاوه بر این بیان بالای ژن *HER2* نیز در پیشرفت سرطان پستان نقش دارد.

در مطالعه حاضر بیان دو ژن *CCND1* و *ITGB1* در بیماران مبتلا به سرطان پستان مورد بررسی قرار گرفت. ژن *CCND1* پروتئین سیکلین دی ۱ را کدگذاری می‌کند. این ژن در بازوی بلند کروموزوم ۱۱ (11q13) قرار دارد و طول آن ۱۳۳۸۸ جفت باز بوده و ۲۹۵ اسید آمینه طول دارد (۷). ژن *CCND1* در تمامی بافت‌های انسان بالغ به استثنای سلول بنیادی مغز استخوان، (هم لنفاوی و هم مغز استخوانی) بیان می‌شود (۸،۹). بیان بالای این ژن در مراحل آغازین سرطان و پیشرفت تومور مشاهده شده است (۱۰). بیان بالای *CCND1* سبب کاهش بیان ژن *Fas* شده و منجر به مقاوت به شیمی‌درمانی نیز می‌شود. علاوه بر این بیان بالای این ژن با بقای کمتر بیماران سرطانی و افزایش متاستاز در ارتباط است (۱۱).

اینتگرین بتا ۱، که با نام *CD29* نیز شناخته شده است، یکی از گیرنده‌های سطح سلول می‌باشد که در انسان توسط ژن *ITGB1* کدگذاری می‌شود. این پروتئین به اینتگرین آلفا ۱ و اینتگرین آلفا ۲ برای شکل‌گیری کمپلکس های اینتگرین می‌پیوندند که به عنوان گیرنده‌های کلاژن عمل می‌کنند. همچنین اینتگرین، دایمرهایی با اینتگرین آلفا ۳ را برای شکل‌گیری گیرنده‌های اینتگرین برای نترین[۴]۱ و ریلین[۵] ایجاد می‌کند. اعضای خانواده اینتگرین، گیرنده‌های غشایی هستند که در چسبندگی سلول‌ها و تشخیص آنها در فرآیندهای مختلفی از جمله جنین‌زایی، هموستاز، ترمیم بافت، پاسخ ایمنی و انتشار متاستاتیک سلول‌های تومور نقش دارند (۱۲). هدف از انجام این پژوهش بررسی تغییر بیان ژن *CCND1* و *ITGB1* در بیماران مبتلا به سرطان پستان می باشد.

مواد و روش ها

انتخاب نمونه

تعداد ۳۰ نمونه بافت توموری و نرمال مجاور از بیماران مبتلا به سرطان پستان که هیچ درمانی روی آنها صورت نگرفته از بیمارستان امام خمینی خریداری شدند.

استخراج RNA و سنتز cDNA

استخراج RNA، از بافت‌های توموری و مجاور توموری با استفاده از ترایزول انجام شد. جهت بررسی کمی و کیفی RNA استخراج شده از روش اسپکتروفوتومتری استفاده شد. سپس غلظت RNA با استفاده از جذب نوری در طول موج ۲۶۰ نانومتر بدست آمد. کیفیت RNA استخراج شده نیز با نسبت جذب ۲۶۰/۲۸۰ سنجیده شد که خلوص می‌بایست بزرگتر مساوی ۱.۸ می بود و سنتز cDNA طبق پروتکل کیت SMOBIO ساخت کشور تایوان صورت گرفت. بر این اساس غلظت همه RNA ها یکسان سازی و به 1000ng رسانده شدند.

واکنش Real-time PCR کمی

مطالعه میزان بیان ژن‌های *CCND1* و *ITGB1* با استفاده از روش Real-time PCR نسبی انجام شد. در مطالعه حاضر از ژن *GAPDH* به عنوان مرجع استفاده شد. اطلاعات مربوط به پرایمرها در جدول ۱ آورده شده است. حجم کلی واکنش ۱۵ میکرولیتر شامل مسترمیکس

[4] netrin
[5] reelin

سایبرگرین 2X، پرایمرها (۳ پیکومول)، Cdna (۱ نانوگرم) و آب تزریقی جهت به حجم رساندن بود. لازم به ذکر است برای سنجش صحت آزمایش در Real- time PCR برای هر نمونه دو تکرار در نظر گرفته شد. برنامه دمایی شامل دو مرحله بود. در آغاز ابتدا در دمای ۹۵ درجه سانتی‌گراد به مدت ۱۵ دقیقه برای فعال شدن آنزیم، سپس ۴۲ سیکل به مدت ۱۵ ثانیه در همین دما برای جدا شدن رشته‌ها و اتصال پرایمر ها در دمای ۶۴ درجه سانتی‌گراد به مدت ۲۰ ثانیه استفاده شد. واکنش real-time PCR در دستگاه StepOnePlus ساخت کشور آمریکا انجام شد.

آنالیز آماری

میزان تغییرات بیان ژن‌ها نیز بر اساس فرمول $2^{-\Delta\Delta ct}$ سنجیده شد و جهت آنالیز آماری داده‌ها از نرم‌افزار Graphpad prism استفاده شد. همچنین معنادار بودن داده‌ها براساس آزمون T-test($P \leq 0.05$) ارزیابی شد.

نتایج

در این مطالعه علائم بالینی و پاتولوژیکی بیماران از جمله مرحله بیماری، جنسیت و سن بیماران نیز در جدول ۲ ارائه شده است.

جدول ۱ - توالی پرایمرها برای تکثیر ژن‌های هدف.

ژن‌های هدف		توالی پرایمرها 5′ 3′ ⟶	اندازه محصول (bp)
CCND1	Forward Reverse	CCAAGACGACTGTTACAA GAAGCCCTCCATGATAAC	۱۰۵
ITGB1	Forward Reverse	CTGTGAATGTGAATGCCAAAGC GACGCACTCTCCATTGTTACTG	۲۱۴
GAPDH	Forward Reverse	ACACCCACTCCTCCACCTTTG TCCACCACCCTGTTGCTGTAG	۱۲۰

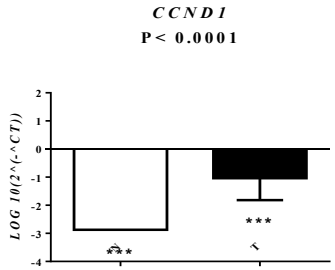
جدول ۲ - دسته بندی بیماران بر اساس مرحله بیماری و جنسیت.

علائم بالینی و پاتولوژیکی بیماران	زیر گروه
مرحله بیماری	٪۲۸ بیماران، بیماری آن‌ها در مرحله‌ی I
	٪۷۲ بیماران، بیماری آن‌ها در مرحله II و III
جنسیت	همگی زن
سن	٪۲۳/۳ زیر ۴۰ سال
	٪۶۷/۷ بالای ۴۰ سال

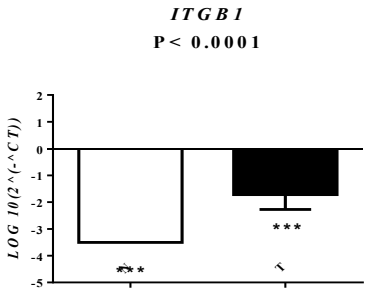
بیماران مبتلا به سرطان پستان از نظر مرحله‌ی بیماری به چهار گروه I، II، III و IV تقسیم‌بندی می‌شوند. در مطالعه حاضر بیماران مرحله‌ی IV مورد بررسی قرار نگرفتند، زیرا این بیماران معمولا دارای متاستاز به نقاط دور مانند مغز، کبد و استخوان بوده و جراحی نمی‌شوند. علاوه بر این به دلیل تعداد کم نمونه‌ها، نمونه بیمارانی که در مراحل I بودند در یک گروه و بیمارانی که در مرحله II و III بودند در گروه دیگر قرار داده شدند.

براساس آنالیز داده‌ها، در خصوص مقایسه میزان نسبی بیان ژن *CCND1* و *ITGB1* در نمونه بافت‌های توموری با نرمال، مطابق نمودارهای ۱ و ۲ مشخص گردید که هر دو ژن افزایش بیان معناداری ($P<0.0001$) را در نمونه بافت‌های توموری در مقایسه با بافت‌های نرمال نشان می‌دهند. در این دو نمودار به دلیل اینکه میزان نسبی افزایش بیان در نمونه‌های توموری نسبت به نمونه‌های نرمال بسیار زیاد بود در نتیجه از مقدار حاصل از فرمول، لگاریتم ۱۰ گرفته شد و به همین دلیل مقادیر حاصله منفی شدند.

همچنین ارتباط افزایش بیان ژن ها با مرحله بیماری و سن بیماران مورد بررسی قرار گرفت و ارتباط معنی‌داری مشاهده نشد ($p>0.05$).



نمودار ۱- مقایسه میزان تغییرات بیان ژن ***CCND1*** در نمونه‌های توموری و نرمال.



نمودار ۲- مقایسه میزان تغییرات بیان ژن *ITGB1* در نمونه‌های توموری و نرمال.

فصلنامه علمی پژوهشی دانش زیستی ایران
جلد ۱۶- شماره ۱- بهار ۱۴۰۰

بحث

سرطان پستان رایج‌ترین سرطان در میان زنان است و از هر ۸ تا ۱۰ زن، یک نفر دچار این سرطان می‌شود. این سرطان دومین علت رایج مرگ، ناشی از سرطان است. با توجه به میزان بالای مرگ و میر ناشی از آن، مطالعات بسیاری بر تلاش برای یافتن راهکارهای تشخیصی و درمانی سرطان پستان متمرکز شده است. چالش‌های فعلی در مدیریت سرطان پستان، شامل تلاش برای یافتن بیومارکرهای حساس و اختصاصی با کمترین میزان تهاجم است که بتواند تغییرات نئوپلاستی را در مراحل اولیه شناسایی کرده و همچنین پیشرفت بیماری و پاسخ‌های درمانی را در بیماران مشخص کند. در همین راستا اهمیت مکانسیم های مولکولی و بررسی بیان ژن‌های درگیر در سرطان پستان می تواند اهمیت بسزایی داشته باشد. بدین منظور در تحقیق حاضر بیان دو ژن *CCND1* و *ITGB1* در نمونه‌های توموری ۳۰ بیمار مبتلا به سرطان پستان بررسی گردید.

ژن *CCND1* در تمامی بافت‌های انسان‌های بالغ به استثنای سلول بنیادی مغز استخوان، (هم لنفاوی و هم مغز استخوانی) بیان می‌شود (۱۴،۱۳). مطالعات نشان داده شده که بیان بالای *CCND1* با شروع سرطان و پیشرفت تومور در ارتباط است و می‌تواند با افزایش رشد بدون چسبندگی و رگ‌زایی از طریق تولید VEGF منجر به آنکوژنز شود. همچنین بیان بالای *CCND1* با کاهش طول عمر بیماران مبتلا به سرطان و افزایش متاستاز در ارتباط است (۱۵). Balcerczak و همکاران، افزایش بیان *CCND1* در سلول‌های آدنوکارسینوما را در ۵۴ نمونه بیماران مبتلا به سرطان روده بزرگ مشاهده کردند (۱۶). افزایش بیان *CCND1* با سرطان پستان +ER ارتباط دارد و تنظیم کاهشی *CCND1* با مقاومت هورمون درمانی در سرطان پستان همراه است(۱۷).

فراوانی سیکلین D1 در چندین سطح تنظیم می‌شود، که هر یک از آنها می‌تواند در طول انکوژنز تحت تأثیر قرار گیرد. علاوه بر فعال کردن جهش‌هایی که *CCND1* را

هدف قرار می‌دهند، فعال شدن سیگنال دهی از طریق کینازهای تیروزین گیرنده (RTKs) و مسیرهای–MEK ERK، WNTو فاکتور هسته ای-kb (NF-κB) منجر به افزایش *CCND1* می‌شوند. تغییرات پس از رونویسی در *CCND1* شامل ترجمه پروتئین از طریق مسیر–PI3K mTORمی‌باشد و اثرات آن بر گردش پروتئین سیکلین D1از طریق فسفوریلاسیون سیکلین D1 در T286توسط کینازها، شامل کیناز سنتاز گلیکوژن β ۳(GSK3β) می‌باشد، که پروتئولیز FBXO4 را افزایش می‌دهد (۱۸).

در مطالعه حاضر نیز مشاهده شد که میزان بیان ژن *CCND1* در تمام ۳۰ جفت نمونه توموری سرطان پستان در مقایسه با نمونه نرمال، افزایش معناداری پیدا کرده است (P<0.0001). در این مطالعه، ارتباط معناداری میان بیان بالای *CCND1* و مرحله تومور وجود نداشت. فعال‌سازی سایر مسیرهای میتوژنیک مانند β-catenin، STAT 5، STAT 3، فاکتور هسته ای kappa b، c-jun، e2f-1، calveolin-1 و سیگنال دهی ras ممکن است مسیرهای متفاوتی را برای برهم زدن تنظیم سیکلین D1 فراهم کند. علاوه بر این، تخریب سیکلین D1 برای تکثیر DNA ضروری است. سطح *CCND1* در اوایل مرحله G1چرخه سلولی افزایش می‌یابد و به مرحله S به سرعت کاهش می‌یابد. بیان بالای *CCND1* در فیبروبلاست‌ها از ورود چرحه سلولی به فاز S جلوگیری می‌کند. همچنین مطالعتن نشان داده است که *CCND1* با اتصال به آنتی ژن هسته سلول تکثیر کننده و CDK2 باعث سرکوب همانند سازی DNA می‌شود (۱۹).

اینتگرین بتا-۱(*ITGB1*) یکی از گیرنده‌های سطح سلول می باشد. اعضای خانواده اینتگرین گیرنده‌های غشایی هستند که در چسبندگی سلول‌ها و فرآیندهای مختلفی از جمله جنین‌زایی، هموستاز، ترمیم بافت، پاسخ ایمنی و انتشار متاستاتیک سلول‌های تومور نقش دارند. اینتگرین، اسکلت سلولی اکتین را با ماتریکس برون سلولی پیوند می‌دهند و سیگنال‌ها را بصورت دو طرفه بین ماتریکس برون‌سلولی و دومین‌های سیتوپلاسمی منتقل می‌کنند. اینتگرین بتا در درجه اول وظیفه هدف‌گذاری دایمرهای اینتگرین را به موقعیت‌های درون سلولی مناسب دارند (۲۰).

مطالعات متعددی در خصوص ارتباط بیان ژن *ITGB1* با بقای کلی و ویژگی‌های کلینیکوپاتولوژیکی بیماران مبتلا به سرطان‌هایی مانند سرطان ریه، سرطان کولورکتال، سرطان پستان، ملانومای درگیر و سرطان لوزالمعده، انجام شده است (۲۱). نتایج نشان می‌دهند که بیان بالای *ITGB1* با بقای پایین‌تر در سرطان ریه و سرطان پستان در ارتباط بوده و بین بیان بالای *ITGB1* و کاهش بقای بیماران مبتلا به سرطان پستان و سرطان ریه ارتباط معناداری مشاهده شده است. با این حال، بیان بالای *ITGB1* با میزان بقای کلی در سرطان کلون و راست روده، سرطان لوزالمعده و ملانوما با توجه به مطالعات انجام شده ارتباط معناداری نداشته است (۲۱). در چندین مطالعه، نقش ژن *ITGB1* در سرطان های پستان و ریه بررسی شده است. Dingemans و همکاران مطالعه‌ای روی تومورهای ۶۸ بیمار مبتلا به سرطان غیرکوچک ریه[6] (NSCLC) انجام دادند. در مطالعه مذکور افزایش بیان *ITGB1* ، با بقای کلی کوتاه‌تر در بیماران مبتلا به NSCLCهمراه بود. از سوی دیگر، بیان ژن *ITGB1* از عوامل پیش‌آگهی برای ابتلای مجدد به سرطان بود. افزایش بیان *ITGB1* ، پتانسیل تهاجمی شدن سلول‌های تومور ریه را افزایش می‌دهد (۲۲).

Klahan و همکاران به بررسی بیان ژن *ITGB1* به عنوان یک بیو مارکر تشخیص بالقوه در سرطان پستان منفی سه‌گانه (TNCB)[7] پرداختند. بیان بالای *ITGB1* در بیماران سرطانی در مراحل اولیه با تومور مرحله I و II (n=37) و بیماران در مراحل پیشرفته با بیماران مرحله III و IV (n=14) مشاهده شد(۲۳). در مطالعه‌ای Chen و همکاران یافتند که MIF از طریق یک مسیر ERK در پودوسیت، بیان *ITGB1* و *CCND1*۱ را تنظیم می‌کند. بیان تنظیم شده *ITGB1* باعث افزایش چسبندگی پودوسیت می‌شود که بیان *CCND1* را افزایش می‌دهد. این افزایش چسبندگی پودوسیت ممکن است کیناز MAP را فعال کرده و بیان *CCND1* را افزایش دهد، که احتمال دارد منجر به گلومرولونفریت تکثیری و به ویژه گلومرولونفریت هلالی شکل شود. این نتایج درک بیشتری از نقش MIF در ایجاد گلومرولونفریت تکثیری را ارائه می‌دهد و دیدگاه مفیدی نیز در مورد رویکردهای موجود

[6] Non-small cell lung cancer
[7] Triple negative breast cancer

برای پیشگیری و درمان نفروپاتی گلومرولی تکثیری ارائه می‌دهد (۲۴).

در خصوص ارتباط *ITGB1* و *CCND1*، باید گفت که *ITGB1* به ترتیب با *CCND1* و E-cadherin در افزایش و یا کاهش میزان متاستاز در سلول‌های سرطانی در ارتباط است. همزمان، *ITGB1* با تنظیم c-Myc مانع از بیان اینتگرین بتا ۳ در سلول‌های سرطانی می‌شود. با این حال، کاهش سطح اینتگرین بتا ۱ بیان جبرانی اینتگرین بتا ۳ را القا می‌کند و باعث مقاومت EMT و IMD در سلول‌های سرطانی و در نتیجه متاستاز می‌شود (۲۵).

اینتگرین و فاکتور رشد در تنظیم چرخه سلولی همکاری می‌کنند. گیرنده‌ها و فاکتورهای رشد در چندین سطح همکاری می‌کنند تا کنترل مناسب تکثیر سلولی را کنترل کنند. برای انتقال سیگنال‌ها به مسیر سیگنالینگ RAS/Raf/Mek/Erk، هر دو فاکتور رشد *CCND1* همچنین از طریق یک مسیر دیگر کنترل می شود که منجر به فعال‌سازی Rac وابسته به K در Sos/PI می‌شود. برای ترجمه موثر سیکلین D1، mRNA142 لازم است. بیان *CCND1* باعث فعال شدن کیناز cdk4/6 می‌شود. انتگرین‌ها همچنین برای تحریک مسیر تجزیه که به طور خاص تنظیم کننده‌های چرخه سلولی منفی p21 و p27 را تخریب می‌کنند، فعال می‌شوند، همچنین اجزای سیکلین cdk2-E را نیز فعال می‌کنند. فعال‌سازی هر دو cdk4/6 و cdk2 برای فسفوریلاسیون Rb لازم است و باعث آزاد شدن E2F می‌شود که برای افزایش رونویسی سیکلین A مورد نیاز است. اجزای CyclinA-cdk2 برای ورود به فاز S مورد نیاز است (۲۶).

بر همین اساس با توجه به مطالعات پیشین و پیرو اهمیت مکانیسم‌های مولکولی سرطان پستان و میزان شیوع آن به ویژه در زنان در جهان، در مطالعه حاضر مشاهده شد که میزان بیان دو ژن *CCND1* و *ITGB1* در بافت سرطان پستان نسبت به بافت نرمال مجاور آن افزایش معناداری داشته است در همین راستا می‌توان نتیجه گرفت که ارزیابی بیان دو ژن مذکور در بیماران مبتلا به سرطان پستان اهمیت دارد.

تقدیر و تشکر

این مقاله بخشی از پایان‌نامه دانشجویی در مقطع کارشناسی ارشد می‌باشد که با حمایت دانشگاه آزاد اسلامی واحد ورامین-پیشوا به انجام رسیده است، بدین وسیله از کلیه‌ی افرادی که ما را در انجام این تحقیق یاری کردند تشکر و قدردانی می‌شود.

منابع مورد استفاده

1. Atashi, H.A., Eslami Vaghar, M., Olya, M., Mirzamohammadi, P., Zaferani Arani, H., Hadizadeh, M., Hashemi Rafsanjani, S.M.R., Alizadeh, G. 2020. Knowledge, attitudes, and practices toward breast cancer: among midwives in a breast cancer educational seminar in Tehran. Arch Breast Cancer 7(1): 29-36.
2. Fahad Ullah, M., 2019. Breast cancer: current perspectives on the disease status. Adv Exp Med Biol 1152: 51-64.
3. DeSantis, C.E., Ma, J., Gaudet, M.M., Newman, L.A., Miller, K.D., Goding Sauer, A., Jemal, A., Siegel, R.L. 2019. Breast cancer statistics, 2019. CA Cancer J Clin 69(6): 438-45.
4. Drobin, K., Marczyk, M., Halle, M., Danielsson, D., Papiez, A., Sangsuwan, T., Bendes, A., Hong, M.G., Qundos, U., Harms-Ringdahl, M., Wersäll, P., Polanska, J., Schwenk, J.M., Haghdoost, S. 2020. Molecular profiling for predictors of radiosensitivity in patients with breast or head-and-neck cancer. Cancers (Basel) 12(3): 753-759.
5. Salvatorelli, L., Puzzo, L., Maria Vecchio, G., Caltabiano, R., Virzì, V., Magro, G. 2020. Ductal carcinoma in situ of the breast: An update with emphasis on radiological and morphological features as predictive prognostic factors. Cancers 12(3): 609-615.
6. Tung, N.M., Garber, J.E. 2018. *BRCA* 1/2 testing: therapeutic implications for breast cancer management. British Journal of Cancer 19(2): 141-152.
7. Mohammedi, L., Doula, F.D., Mesli, F., Senhadji, R. 2019. Cyclin D1 overexpression in Algerian breast cancer women: correlation with CCND1 amplification and clinicopathological parameters. Afr Health Sci 19(2): 2140-2146.
8. Gao, D., Liu, Z. 2019. Cyclin D1+ large B-cell lymphoma with altered *CCND1* and BCL-6 rearrangements: a diagnostic challenge. Biomarker Research 3(7): 11-18.

9. Roskoski, R. 2019. Cyclin-dependent protein serine/threonine kinase inhibitors as anticancer drugs. Pharmacol Res 139: 471-488.
10. Moradi Binabaj, M., Bahrami, A., Khazaei, M., Ryzhikov, M., Ferns, G.A., Avan, A., Mahdi Hassanian, S. 2020. The prognostic value of cyclin D1 expression in the survival of cancer patients: A meta-analysis. Gene 20(2): 728-732.
11. Ibrahim, H.M., AbdElbary, A.M., Mohamed, S.Y., Elwan, A., Abdelhamid, M.I., Ibrahim, A., 2019. Prognostic value of cyclin d1 and cd44 expression in gastric adenocarcinoma. Journal of Gastrointestinal Cancer 50(3): 370-379.
12. Nieberler, M., Reuning, U., Reichart, F., Notni, J., Wester, H. J., Schwaiger, M., Kessler, H., 2017. Exploring the role of RGD-recognizing integrins in cancer. Cancers 9(9): 116-121.
13. He, Q., Wu, J., Liu, X.L., Ma, Y.H., Wu, X.T., Wang, W.Y. 2017. Clinicopathological and prognostic significance of cyclin D1 amplification in patients with breast cancer: a meta-analysis. J Buon 22(5): 1209-1216.
14. Di Sante, G., Casimiro, M.C., Li, Z., Ertel, A., Tompa, P., Pestell, R.G. 2018. D-type cyclins and gene transcription. Mol Cell Biol 7(2): 61-90.
15. Ibrahim, H.M., AbdElbary, A.M., Mohamed, S.Y., Elwan, A., Abdelhamid, M.I., & Ibrahim, A. 2019. Prognostic value of cyclin d1 and cd44 expression in gastric adenocarcinoma. Journal of gastrointestinal cancer 50(3): 370-379.
16. Balcerczak E, Pasz-Walczak G, Kumor P, Panczyk M, Kordek R, Wierzbicki R, Mirowski M. 2005. Cyclin D1 protein and *CCND1* gene expression in colorectal cancer. Eur J Surg Oncol 31(7): 721-6.
17. John, P. 2007. The regulation of cyclin D1 degradation: roles in cancer development and the potential for therapeutic invention. Molecular Cancer 2(6): 24-29.
18. Musgrove, E.A., Caldon, C.E., Barraclough, J., Stone, A., Sutherland, R.L. 2011. Cyclin D as a therapeutic target in cancer. Nat Rev Cancer 11(8): 558-72.
19. Mohammedi, L., Doula, F.D., Mesli, F., Senhadji, R. 2019. Cyclin D1 overexpression in Algerian breast cancer women: correlation with CCND1 amplification and clinicopathological parameters. Afr Health Sci 19(2): 2140-2146.
20. Shan, Y.S., Hsu, H.P., Lai, M.D., Hung, Y.H., Wang, C.Y., Yen, M.C., Chen, Y.L., 2017. Cyclin D1 overexpression correlates with poor tumor differentiation and prognosis in gastric cancer. Oncol Lett 14(4): 4517-4526.
21. Quanwu, S., Chuan, Z., Ruofei, M., Qianhong, G., Haiyun, H., Jie, H., Hong, L., Rong, S., Bo, L., 2018. Prognostic value of increased integrin-beta 1 expression in solid cancers: a meta-analysis. Onco Targets and Therapy 29(11): 1787-1799.
22. Dingemans, A.C., van den Boogaart, V., Vosse, B.A., 2010. Integrin expression profiling identifies integrin alpha5 and beta1 as prognostic factors in early stage non-small cell lung cancer. Mol Cancer 17(9): 152-156.
23. dos Santos, P.B., Zanetti, J.S., Ribeiro-Silva, A., 2012. Beta 1 integrin predicts survival in breast cancer: a clinicopathological and immunohistochemical study. Diagn Pathol 16(7): 104-115.
24. Klahan, S., Huang, W., Che-Mai Chang, C., Ching Wong, H., Huang, C., Wu, M., Lin, Y., Lu, H., Hou, M., Chang, W., 2016. Gene expression profiling combined with functional analysis identify integrin beta1 (*ITGB1*) as a potential prognosis biomarker in triple negative breast cancer. Pharmacological Research 104 (2): 31-37.
25. Boju, P., Junchao, G., Quan L., Yupei, Z., 2018. β1 and β3 integrins in breast, prostate and pancreatic cancer: A novel implication. Oncology Letters 15(4): 5412-5416.
26. Chen, C., Chang, M., Yang, Y., Chang, E., Chen, H., 2020. Macrophage migration inhibitory factor regulates integrin-β1 and cyclin D1 expression via ERK pathway in podocytes. Biomedicine & Pharmacotherapy 124(3): 154-159.