Arak Medical University Journal (AMUJ) *Original Article*
2018; 20(128): 87-95

Evaluation of Human Endogenous Retrovirus K expression in the Blood of Breast Cancer Patients

Sara Karimi Moghadam[1], Roohollah Dorostkar[2]*, Saeed Hesami Takallou[3]

1. MSc in Biotechnology, Department of Biology, Central Tehran Branch, Islamic Azad University, Tehran, Iran
2. Assistant Professor, Applied Viral Research Center, Baqiyatallah University of Medical Sciences and Research Center, Tehran, Iran
3. Assistant Professor, Department of Biology, Central Tehran Branch, Islamic Azad University, Tehran, Iran

Received: 16 Oct 2017, Accepted: 19 Dec 2017

Abstract

Background: Breast cancer is the most common cancer in Iran and breast cancer is the fifth leading cause of death among women. Diagnosis of breast cancer in early stages could increase the lifetime of more than 90% of patients. Human endogenous retroviruses are as heterochromatic parts of the genome, lack any expression. But in several categories of human cancers, including breast cancer, there is a significant increase in the level of HERV-Kenv mRNA.

Materials and Methods: In this case-control study, blood samples were collected from 40 breast cancer patients admitted in Baqiyatallah Hospital and 20 healthy individuals to study the increased expression of HERV-Kenv mRNA using specific primers and were tested by RT-PCR.

Results: Investigations on the patient and control groups showed that increased expression of mRNA was positive in 60% of patients with breast cancer and negative in all healthy subjects.

Conclusion: The results of this study showed that expression of mRNA HERV Kenv in breast cancer was increased. Since enhancement of mRNA HERV-Kenv in the blood of breast cancer patients occurs in of disease, these retroelements could be used as a diagnostic biomarker

Keywords: Breast cancer, Diagnosis, Human endogenous retrovirus, Prognosis, RT-PCR

*Corresponding Author:
Address: Applied Viral Research Center, Baqiyatallah University of Medical Sciences and Research Center, Tehran, Iran
Email: R.dorost@yahoo.com

مقاله پژوهشی
مجله علمی پژوهشی دانشگاه علوم پزشکی اراک
سال ۲۰، شماره ۱۱ (شماره پیاپی ۱۲۸)، بهمن ۱۳۹۶، ۹۵-۸۷

بررسی بیان ژن رتروویروس های درون‌زاد انسانی تیپ K در نمونه خون مبتلایان به سرطان سینه

سارا کریمی مقدم[۱]، روح ا.. درستکار[۲*]، سعید حسامی تکلو[۳]

۱. کارشناس ارشد بیوتکنولوژی،گروه زیست شناسی، واحد تهران مرکزی، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران
۲. استادیار، مرکز تحقیقات ویروس شناسی کاربردی، دانشگاه و پژوهشگاه علوم پزشکی بقیه الله الاعظم (عج)، تهران، ایران
۳. استادیار،گروه زیست شناسی، واحد تهران مرکزی، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران

تاریخ دریافت: ۹۶/۷/۲۴، تاریخ پذیرش: ۹۶/۹/۲۸

چکیده

زمینه و هدف: سرطان پستان یکی از شایع‌ترین سرطان‌های شناخته شده و پنجمین عامل مرگ و میر زنان ایرانی می باشد. در صورت تشخیص سرطان پستان در مراحل اولیه بیماری (DCIS) و انجام درمان مناسب، می‌توان شاهد افزایش طول عمر بیش از ۹۰ درصد از بیماران بود. رتروویروس‌های درون‌زاد انسانی به عنوان قطعات هتروکروماتینی ژنوم به طور معمول فاقد هرگونه بیان می‌باشند، اما در چندین رده از سرطان‌های انسانی از جمله سرطان پستان افزایش قابل ملاحظه‌ای از میزان mRNA HERV-Kenv به چشم می‌خورد. در این پژوهش با بررسی بیان mRNA HERV-K از طریق RT-PCR سعی در معرفی یک ابزار غربال‌گری در تشخیص زودهنگام سرطان پستان شده است.

مواد و روش‌ها: در این پژوهش موردی-شاهدی، نمونه‌ی خون ۴۰ فرد مبتلا به سرطان پستان بستری شده در بیمارستان بقیه ا... اعظم و ۲۰ فرد سالم جهت بررسی افزایش بیان mRNA HERV-Kenv با استفاده از پرایمرهای اختصاصی طراحی شده و با روش RT-PCR مورد بررسی قرار گرفت.

یافته‌ها: بررسی‌ها بر دو گروه بیمار و کنترل نشان داد که افزایش بیان mRNA در ۶۰ درصد بیماران مبتلا به سرطان پستان مثبت و در کلیه افراد سالم منفی است.

نتیجه‌گیری: نتایج به دست آمده حاکی از افزایش بیان رتروویروس های درونزاد انسانی(HERVs) در سرطان پستان است. از آن‌جا که میزان mRNA HERV-Kenv موجود در خون بیماران مبتلا به سرطان پستان به طور چشمگیری افزایش می‌یابد، از این رو، پیش بینی می‌شود که بتوان از این عناصر متحرک ژنی به عنوان یک بیومارکر تشخیصی استفاده نمود.

واژگان کلیدی: رتروویروس های درون‌زاد انسانی، سرطان پستان، تشخیص، پیش آگهی، RT-PCR

***نویسنده مسئول:** ایران، تهران، دانشگاه و پژوهشگاه علوم پزشکی بقیه الله الاعظم (عج)، مرکز تحقیقات ویروس شناسی کاربردی
Email: R.dorost@yahoo.com

مقدمه

بروز سرطان پستان در بین انواع مختلف سرطان‌ها، به عنوان شایع‌ترین و کشنده‌ترین نوع سرطان زنان محسوب می‌شود. این امر به عنوان یکی از مهم‌ترین عوامل نگران کننده‌ی سلامت زنان در جهان به شمار می‌رود(۱، ۲). بروز سرطان پستان در زنان ایرانی، یک دهه زودتر نسبت به دیگر کشورهای پیشرفته اتفاق می‌افتد که این امر نشان دهنده‌ی شیوع بالای این سرطان در بین زنان جوان ایرانی است(۳، ۴). با وجود درمان پذیر بودن این نوع سرطان و افزایش رو به رشد میزان شیوع آن در سطح جهان، به نظر می‌رسد اساسی ترین معضل پیش‌رو، عدم تشخیص دقیق، سریع و زود هنگام این نوع سرطان است. روش‌های تشخیصی متعددی برای شناسایی سرطان پستان وجود دارد که می‌توان به ماموگرافی و آزمایشات کلینیکی مربوط به آنتی‌ژن‌های تمایز بافتی هم‌چون PR، ER و Her2 اشاره کرد. اما وجود معایبی چون بروز مثبت یا منفی کاذب در زنان جوان و عوارض ناشی از اشعه در روش ماموگرافی(۵) و هم‌چنین پایین بودن حساسیت این بیومارکرها در مراحل اولیه بیماری (DCIS) (۶) می‌تواند دلیلی بر یافتن روش‌های جدید تشخیصی باشد. مطالعه بر روی بیومارکرهای مولکولی با حساسیت و اختصاصیت لازم می‌تواند راه حل مناسبی جهت تشخیص سریع در مراحل کلینیکی به شمار رود. در این میان، بیومارکرهای رتروویروسی درونزاد می‌توانند مزایای عملکردی خوبی را به همراه داشته باشند.

گروهی از ویروس‌ها که به دلیل همراهی آن‌ها با سرطان اخیراً ظهور یافته‌اند، خانواده‌ای از رتروویروس‌های درونزای انسانی (HERVs) هستند که به عنوان زیر مجموعه‌ای از عناصر متحرک ژنی شناخته می‌شوند(۷). این توالی‌های ویروسی میلیون‌ها سال قبل درون ژنوم انسان جای گرفته‌اند که بر اساس بررسی‌های صورت گرفته، حدود ۸ درصد از ژنوم انسان، به این توالی‌های ویروسی آلوده هستند(۸). این رتروویروس‌ها دارای قطعات تکراری انتهایی طولانی حاوی ناحیه رمز کننده ترانس کریپتاز معکوس می‌باشند(۷). هم‌چنین توانایی عفونت زایی خود را از دست داده‌اند(۹) و بر اثر جهش‌های متعدد، توانایی جابه جایی در طول ژنوم را ندارند(۱۰). قسمت اعظم جایگاه‌های HERV از طریق هایپرمتیلاسیون DNA به صورت خاموش می‌باشد، اما در بسیاری از سرطان‌ها ژنوم این جایگاه‌ها بر اثر هایپومتیلاسیون فعال شده و قابلیت بیان پیدا می‌کنند(۱۱). رتروویروس‌های درونزاد براساس شباهتی که با رتروویروس خارجی دارند به ۳ کلاس مختلف دسته بندی می‌شوند(۱۲) که در این میان گروه HERV-K جزو کلاس Π خانواده HERV محسوب می‌شود که شباهت نزدیکی به بتارتروویرروس‌ها دارد. این خانواده به ۱۱ زیر گروه مختلف (HML-1 – HML-11) تقسیم می‌شود(۷). میزان بیان HERV-Kenv در اکثر بافت‌های سرطانی پستان نسبت به بافت نرمال به طور قابل توجهی بالاتر است و هم‌چنین یک ارتباط معنادار بین محرک‌های استروژنی-پروژسترونی و میزان رونویسی HERV-Kenv در بافت‌های سرطانی پستان دیده می‌شود(۱۳، ۱۴).

بررسی آنالیزهای حاصل از سنجش میزان بیان ژن نشان می‌دهد که افزایش بیان ژن HERV تحت تاثیر برخی عوامل محرک خارجی نظیر مواد شیمیایی(۱۵)، اشعه UV(۱۶)، سیگار کشیدن(۱۷)، ویروس‌ها (۱۸) و عوامل داخلی چون استروژن(۱۹) و سیتوکین‌ها(۲۰) قرار دارد(۲۱). هم‌چنین در بافت‌های سرطانی پستان بیان آنزیم HERV-K RT (رونوشت بردار معکوس) افزایش قابل ملاحظه‌ای را نشان داده است(۲۲).

بررسی میزان بیان mRNA HERV-Kenv در سرم بیماران، بیان‌گر این موضوع است که در بافت های سرطانی بیان متوسط و یا قوی از این پروتئین وجود دارد. این در حالی است که در بافت های طبیعی هیچ بیانی از پروتئین HERV-Kenv دیده نمی‌شود. سنجش mRNA HERV-Kenv در سرم بیماران می‌تواند به عنوان یک ابزار غربال‌گری در تشخیص سرطان پستان در مراحل اولیه غیرتهاجمی مورد استفاده قرارگیرد. این امر سبب درمان زودهنگام و جلوگیری از گسترش سرطان به بافت‌های دیگر می‌شود(۲۳).

مواد و روش‌ها

نمونه‌های آزمون

جهت بررسی میزان بیان mRNA HERV-Kenv، ۴۰ نمونه خون بیماران مبتلا به سرطان پستان بستری شده در بیمارستان بقیه الله اعظم در یک بازه شش ماهه از فروردین تا شهریور سال ۹۵ مورد بررسی قرار گرفتند. کلیه بیماران دارای تومور با سایز کمتر از ۵ سانتی‌متر بوده‌اند. هم‌چنین ۲۰ نفر از مراجعه کنندگان به بخش ماموگرافی که از نظر عدم ابتلا به سرطان پستان تایید شده بودند، به عنوان گروه کنترل به آزمایشگاه معرفی و پس از اخذ رضایت نامه از کلیه افراد، ۳ میلی لیتر خون از آن‌ها تهیه و جهت استخراج RNA در لوله های حاوی EDTA به آزمایشگاه منتقل گردید.

استخراج RNA

به منظور استخراج RNA از نمونه خون بیماران، کلیه مراحل مطابق با پروتکل موجود در کیت تجاری Hybrid-R TM Blood RNA متعلق به شرکت GeneAll کره جنوبی انجام شده است. کیت مذکور برای رسوب سریع RNA با خلوص بالا از نمونه خون طراحی شده است. بعد از انجام استخراج، به منظور حذف هرگونه آلودگی با DNA ژنومی، از آنزیم DNase شرکت کیاژن (Cat#79254) استفاده شد. جهت حصول اطمینان از عدم آلودگی RNA به دست آمده به DNA ژنومی، محصول استخراج با استفاده از PCR معمولی مورد بررسی قرار گرفت. محصول نهایی درون تیوپ‌های RNase-free الیکوت شده و در دمای ۸۰- درجه نگهداری گردید. به منظور ارزیابی کیفیت RNA استخراج شده از دستگاه نانودراپ استفاده شد.

طراحی پرایمر

در این پژوهش، در مجموع ۲ پرایمر با رجوع به توالی‌های موجود در بانک اطلاعاتی NCBI برای ژن HERV-Kenv و ۲ پرایمر GapDH برای توالی‌های ژن‌های خانه‌دار طراحی شده است. طول هر دو پرایمر HERV-Kenv و GapDH برابر با ۲۰ نوکلئوتید است. بعد از طراحی، توالی پرایمرها توسط NCBI و Gene Runner نیز بلاست گردیدند تا اختصاصیت آن‌ها به طور کامل مورد بررسی قرار گیرد. ساخت پرایمرهای طراحی شده توسط شرکت پیشگام بیوتک انجام شد. توالی پرایمرها در جدول ۱ نمایش داده شده است.

جدول۱. پرایمرهای طراحی شده جهت ارزیابی ژن های GAPDH و HERV-K

ژن هدف	پرایمر	توالی	PCR Products
HERV-K*env*	F	5′ CACAACTAAAGAAGCTGACG 3′	168bp
	R	5′ CATAGGCCCAGTTGGTATAG 3′	168bp
GAPDH	F	5′ CTCTCTGCTCCTCCTGTTCG 3′	114bp
	R	5′ ACGACCAAATCCGTTGACTC 3′	114bp

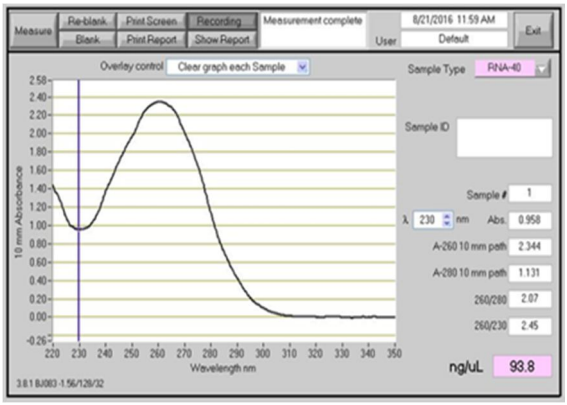
RT-PCR

جهت انجام RT-PCR از روش one step RT-PCR استفاده شد. در این روش تولید cDNA و انجام واکنش PCR در یک مرحله به صورت همزمان انجام می‌گیرد. برای انجام این کار از کیت آماده HyperScript مربوط به شرکت Gene All کره جنوبی استفاده شد. به منظور انجام واکنش از دستگاه ترموسایکلر ۹۶ چاهکی BIO –RAD آمریکا استفاده شد. به مستر با حجم ۱۰ ماکرولیتر به میزان ۱ ماکرولیتر (10 Pmol) پرایمر، ۲ ماکرولیتر نمونه (RNA استخراج شده) و ۷ ماکرولیتر آب RNase-free اضافه شد. برنامه دمایی واکنش به صورت یک مرحله cDNA سازی در دمای ۵۵ درجه سانتی‌گراد به مدت ۶۰ دقیقه، یک مرحله واسرشت اولیه در دمای ۹۴ درجه سانتی‌گراد به مدت ۵ دقیقه و ۳۵ سیکل با برنامه دمایی ۹۴ درجه سانتی‌گراد به مدت ۳۰ ثانیه(واسرشت ثانویه)، ۵۹ درجه سانتی‌گراد به مدت ۳۰ ثانیه(جهت اتصال پرایمرها)، ۷۲ درجه سانتی‌گراد به مدت ۴۵ ثانیه(گسترش) و در نهایت ۸ دقیقه در دمای ۷۲ درجه

سانتی‌گراد به منظور گسترش نهایی بود. آزمون PCR با استفاده از رده سلول‌های سرطانی Hela (آدنو کارسینومای دهانه رحم) که دارای بیان ژن HERV-K env می‌باشد به عنوان کنترل مثبت بهینه گردید. پس از الکتروفورز محصول PCR، باند اختصاصی حاصل از پرایمر HERV-Kenv ۱۶۸ جفت باز و پرایمر GAPDH ۱۱۴ جفت باز طول داشت. با اطمینان یافتن از بهینه شدن آزمون PCR و به دست آمدن باند اختصاصی نمونه و کنترل مثبت داخلی، آزمون PCR بهینه شده برای ۴۰ نمونه بیمار و ۲۰ نمونه کنترل مورد استفاده قرار گرفت. در نهایت، صحت واکنش RT-PCR انجام شده به وسیله ژل آگارز ۲ درصد ارزیابی گردید.

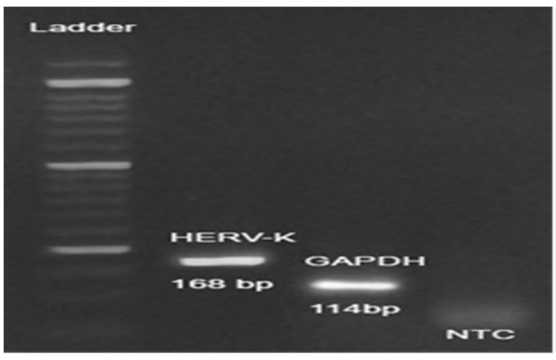
یافته ها

همان‌طور که ذکر شد، در این پژوهش در مجموع ۶۰ نفر شامل ۴۰ فرد مبتلا به سرطان سینه به عنوان گروه شاهد و ۲۰ فرد سالم از نظر عدم ابتلا به سرطان پستان به عنوان گروه کنترل مورد بررسی قرار گرفتند. جهت سنجش RNA استخراج شده با دستگاه نانودراپ، نسبت ۲۶۰ به ۲۸۰ باید بین ۱/۸ تا ۲/۲ باشد. هم‌چنین نسبت ۲۶۰ به ۲۳۰ برای RNA باید بالاتر از ۲ باشد(شکل ۱). محصول PCR حاصل از RNA استخراج شده برروی ژل آگارز ۲ درصد برده شد و هیچ باندی به دست نیامد که نشان دهنده عدم آلودگی RNA استخراج شده به DNA ژنومی است(شکل ۲). هم‌چنین به منظور بهینه سازی فرآیند PCR و صحت عملکرد پرایمرها از ژنوم سلول Hela (رده سلولی از سرطان گردنه رحم) به عنوان نمونه کنترل مثبت استفاده شده است(شکل ۳). نحوه بیان mRNA HERV-Kenv به این صورت بود که در ۲۴ نمونه (۶۰ درصد) از ۴۰ نمونه خون افراد مبتلا به سرطان پستان تست RT-PCR مثبت ارزیابی شده و در ۱۶ نمونه (۴۰ درصد) باقیمانده جواب تست RT-PCR منفی گزارش گردید(شکل ۴). این در حالی است که ارزیابی صورت گرفته به وسیله RT-PCR برای ۲۰ نمونه خون کنترل، به طور کامل منفی گزارش شد(شکل ۵). بیان ۶۰ درصد ژن HERV-Kenv در نمونه‌ها بیان‌گر افزایش احتمال روشن شدن این ژن در هنگام بروز سرطان و یا پیشرفت بیماری می‌باشد.

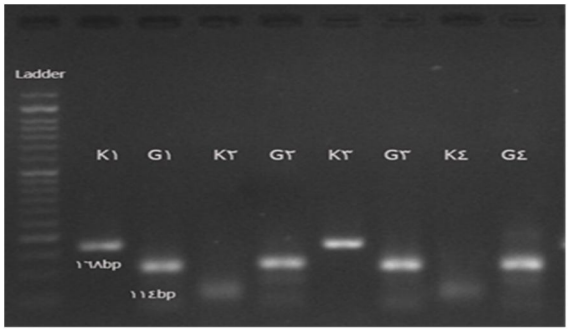


شکل ۱. بررسی غلظت RNA استخراج شده به وسیله دستگاه نانودرآپ. نسبت ۲۶۰ به ۲۸۰، ۲/۰۷ می باشد و هم‌چنین نسبت ۲۶۰ به ۲۳۰ برای نمونه RNA ۲/۴۵ است.

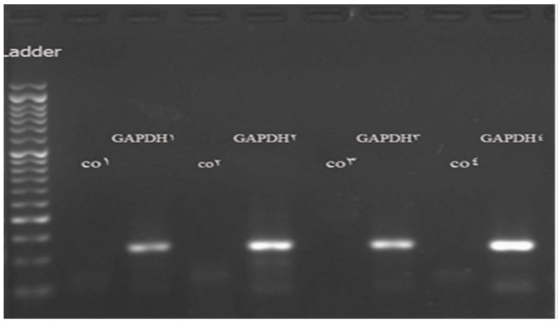
شکل ۲. تایید عدم آلودگیRNA استخراج شده به DNA ژنومی. از راست به چپ: کنترل منفیNTC، کنترل مثبت PTC، Ladder سایز مارکر، (۱۲-۱) RNA های استخراج شده. باند کنترل مثبت دارای ۱۶۸bp طول می‌باشد.



شکل۳. بررسی صحت عملکرد پرایمرها. از راست به چپ: کنترل منفی NTC، انجام کنترل داخلی به وسیله پرایمر GAPDH، ژن HERV-Kenv موجود در ژنوم سلول Hela، Ladder سایز مارکر 50bp.



شکل ٤. محصول RT-PCR ژن HERV-K نمونه بیماران.
از چپ به راست: Ladder سایز مارکر 50 bp، k1-4 محصول RT-PCR ژن HERV-Kenv نمونه بیمار، G1-4 محصول RT-PCR پرایمر GAPDH به عنوان کنترل داخلی.



شکل ٥. بررسی نمونه های سالم.
از چپ به راست: Ladder سایز مارکر 50 bp، Co1-4 محصول RT-PCR ژن HERV-K برروی نمونه افراد سالم، GAPDH1-4 محصول RT-PCR پرایمر GAPDH به عنوان کنترل مثبت داخلی. هیچ بیانی از ژن HERV-Kenv در افراد سالم دیده نشده است

بحث

بررسی نتایج این پژوهش نشان می‌دهد که افزایش بیان ۶۰ درصدی mRNA HERV-K، حاکی از افزایش بیان آن در مبتلایان به سرطان سینه است.

سرطان سینه یکی از بیماری‌های مزمن غیرواگیر می‌باشد که سلامت افراد خانواده را به خطر انداخته و بر جسم و روان و وضعیت اقتصادی و اجتماعی فرد تاثیر می-گذارد. شیوع بالا، شدت بدخیمی، عوارض و امکان اعمال مداخله ایجاب می‌کند تا در مورد سرطان پستان اقدام های اساسی و موثری صورت گیرد. سرطان سینه شایع‌ترین سرطان در میان زنان می‌باشد که تظاهرات ناهمگون و قابلیت درمان آن، لزوم تشخیص زودهنگام آن را مورد تأکید قرار می‌دهد. با وجود این‌که روش‌های تشخیصی متعددی چون ماموگرافی، سونوگرافی، MRI (۵) و آزمایشات کلینیکی مربوط به آنتی‌ژن های تمایز بافتی(۶) برای تشخیص سرطان پستان وجود دارد، اما تاکنون آزمونی ساده و در عین حال دقیق و قابل اعتماد برای تشخیص سرطان پستان در مراحل اولیه بیماری (DCIS) طراحی نشده است. در برخی از سرطان‌ها، تکنیک‌های غربال‌گری برای تشخیص زودهنگام مبتنی بر بیومارکرهایی است که به خوبی پذیرفته شده‌اند(۲۴).گروهی از ویروس‌ها که به دلیل همراهی آن‌ها با سرطان اخیراً ظهور یافته‌اند، خانواده‌ای از رتروویروس‌های درونزاد انسانی(HERV) هستند که باقیمانده‌ی آلودگی‌های سلول‌های زایای قدیمی‌اند که اکنون بخشی از ژنوم انسان شده‌اند. عناصر رتروویروسی HERV-K به دلیل قرارگرفتن در بخش‌های هتروکروماتینی و مکانیسم‌های دفاعی ضدویروسی به صورت خاموش درآمده‌اند. در شرایط سرطانی این رتروترانسپوزون‌ها از حالت خاموش خارج شده و فعالیت خود را از نو آغاز می‌کنند. با بررسی‌های صورت گرفته نشان داده شده است که رونویسی HERV در چندین رده سرطان انسانی از جمله سرطان تخمدان، لنفوم، سارکوم، مثانه و پوست (۲۸-۲۵) و در رده‌های سلولی سرطان پستان (۲۷، ۲۸) افزایش می‌یابد. وانگ-جوهانینگ و همکاران در سال ۲۰۰۷ با بررسی میزان بیان HERV-K(env) در سلول‌های سرطانی تخمدان، افزایش میزان بیان ژن env را در سرطان تخمدان تایید کرده‌اند. هم‌چنین در این پژوهش افزایش بیان کلاس‌های دیگر HERV در سرطان تخمدان نیز تایید شده است(۲۵). گلن و همکاران در سال ۲۰۰۸ آنزیم ترانس کریپتاز معکوس رتروویروس درونزاد انسانی(HERV) را به عنوان یک بیومارکر پیش آگهی برای سرطان پستان معرفی کرده‌اند(۲۲). هم‌چنین، ژائو و همکاران در سال ۲۰۱۱ با بررسی بیان HERV-K(env) به روش ایمنوهیستوشیمی به این نتیجه رسیده‌اند که در بافت‌های سرطانی پستان بر خلاف بافت سالم، بیان HERV-K(env) بروز می‌کند. علاوه بر این، میزان بیان

env نیز با پیشرفت سرطان و بروز متاستاز همراه است. از این رو می‌توان از پروتئین HERV-K(env) به عنوان یک نشان‌گر پیش آگهی سرطان پستان استفاده کرد(۲۹). ریو و همکاران نیز در سال ۲۰۱۴ به بررسی سطح mRNA و پروتئین HERV-K(HML-2) در پلاسمای خون پرداخته‌اند. آن‌ها در این پژوهش اثرگذاری شیمی درمانی بر کاهش بیان ژن HERV-K(env) را تایید کرده‌اند(۳۰). وانگ-جوهانینگ و همکاران در سال ۲۰۱۴ آنتی بادی های علیه HERV K و mRNA های ژن‌های مختلف آن به خصوص env را به عنوان بیومارکر سرمی سرطان سینه معرفی کردند(۲۳).

نتیجه گیری

نتایج حاصل از این پژوهش نشان می‌دهد که mRNA سرمی HERV-Kenv می‌تواند مشخص کننده‌ی وجود سرطان پستان لااقل در بعضی از زنان باشد، چرا که در این مطالعه مشخص گردید بیان mRNA HERV-Kenv در سرم گروهی از زنان مبتلا به سرطان پستان افزایش می‌یابد؛ درنهایت می‌توان این چنین نتیجه‌گیری کرد که با مطالعات بیشتر و دقیق‌تر بر روی این بیومارکر، می‌تواند به یکی از امیدبخش‌ترین بیومارکرهای تشخیص سرطان پستان بدل شود. در صورت ورود این بیومارکر به فضای بالینی می‌توان از آن به عنوان مکملی برای ماموگرافی استفاده کرد. به سبب پایین بودن میزانmRNA HERV-Kenv موجود در خون، طراحی تست‌های حساس‌تر و دقیق‌تر چون Real-Time PCR در مطالعات آینده پیشنهاد می‌گردد.

تشکر و قدردانی

این مطالعه حاصل بخشی از پایان‌نامه کارشناسی ارشد رشته بیوتکنولوژی می‌باشد. بدین وسیله از جناب آقای دکتر زارع به جهت حمایت‌ها و کمک‌های بی دریغشان و هم‌چنین از کلیه پرسنل آزمایشگاه تحقیقاتی ویروس شناسی پژوهشگاه بقیه الله تشکر و قدردانی می گردد. به علاوه از مشاوره‌ها و راهنمایی های واحد توسعه تحقیقات بالینی بیمارستان بقیه الله اعظم(عج) سپاس‌گزاری می گردد.

منابع

1. Nafissi N, Saghafinia M, Motamedi MH, Akbari ME. A survey of breast cancer knowledge and attitude in Iranian women. Journal of cancer research and therapeutics. 2012;8(1):46-9.
2. Banegas MP, Bird Y, Moraros J, King S, Prapsiri S, Thompson B. Breast Cancer Knowledge, Attitudes, and Early Detection Practices in United States-Mexico Border Latinas. Journal of Women's Health. 2012;21(1):101-7.
3. Ghiasvand R, Maram ES, Tahmasebi S, Tabatabaee SH. Risk factors for breast cancer among young women in southern Iran. Int J Cancer. 2011;129(6):1443-9.
4. Tayebi Niaraki M, Kavosi M, Moslemi E, Izadi A. HER3 Gene Expression Study by RT-PCR in Patient with Breast Cancer. Iranian Quarterly Journal of Breast Diseases. 2016;9(2):60-5.
5. Mousavi AS. Breast Cancer Screening. Iranian Journal of Gynecology and Obstetrics. 2011;6(3):54-60.
6. Chapman C, Murray A, Chakrabarti J, Thorpe A, Woolston C, Sahin U, et al. Autoantibodies in breast cancer: their use as an aid to early diagnosis. Annals of Oncology. 2007;18(5):868.۷۳-
7. Downey RF, Sullivan FJ, Wang-Johanning F, Ambs S, Giles FJ, Glynn SA. Human endogenous retrovirus K and cancer: Innocent bystander or tumorigenic accomplice? International Journal of Cancer. 2014.
8. Lee YJ, Jeong BH, Park JB, Kwon HJ, Kim YS, Kwak IS. The prevalence of human endogenous retroviruses in the plasma of major burn patients. ELSEVIER. 2012.
9. Boller K, Schonfeld K, Lischer S, Fischer N, Hoffmann A, Kurth R, et al. Human endogenous retrovirus HERV-K113 is capable of producing intact viral particles. The Journal of general virology. 2008;89(Pt 2):567-72.
10. Flockerzi A, Burkhardt S, Schempp W, Meese E, Mayer J. Human Endogenous

Retrovirus HERV-K14 Families: Status, Variants, Evolution, and Mobilization of Other Cellular Sequences. Journal of Virology. 2005;79(5):2941-9.
11. Schulz WA, Steinhoff C, Florl AR. Methylation of endogenous human retroelements in health and disease. Current topics in microbiology and immunology. 2006;310:211-50.
12. Hohn O, Hanke K, Bannert N. HERV-K(HML-2), the Best Preserved Family of HERVs: Endogenization, Expression, and Implications in Health and Disease. Frontiers in oncology. 2013;3:246.
13. McPherson K, Steel CM, Dixon JM. ABC of breast diseases. Breast cancer-epidemiology, risk factors, and genetics .BMJ (Clinical research ed). 2000;321(7261):624-8.
14. Ejthadi HD, Martin JH, Junying J, Roden DA, Lahiri M, Warren P, et al. A novel multiplex RT-PCR system detects human endogenous retrovirus-K in breast cancer. Archives of Virology. 2005;150(1):177-84.
15. Khan AS, Muller J, Sears JF. Early detection of endogenous retroviruses in chemically induced mouse cells. Virus research. 2001;79(1-2):39-45.
16. Hohenadl C, Germaier H, Walchner M, Hagenhofer M, Herrmann M, Stürzl M, et al. Transcriptional Activation of Endogenous Retroviral Sequences in Human Epidermal Keratinocytes by UVB Irradiation. Journal of Investigative Dermatology. 1999;113(4):587-94.
17. Gabriel U, Steidler A, Trojan L, Michel MS, Seifarth W, Fabarius A. Smoking increases transcription of human endogenous retroviruses in a newly established in vitro cell model and in normal urothelium. AIDS research and human retroviruses. 2010;26(8):883-8.
18. Contreras-Galindo R, Lopez P, Velez R, Yamamura Y. HIV-1 infection increases the expression of human endogenous retroviruses type K (HERV-K) in vitro. AIDS research and human retroviruses. 2007;23(1):116-22.
19. Ono M, Kawakami M, Ushikubo H. Stimulation of expression of the human endogenous retrovirus genome by female steroid hormones in human breast cancer cell line T47D. Journal of virology. 1987.
20. Katsumata K, Ikeda H, Sato M, Ishizu A, Kawarada Y, Kato H, et al. Cytokine regulation of env gene expression of human endogenous retrovirus-R in human vascular endothelial cells. Clinical immunology (Orlando, Fla). 1999;93(1):75-80.
21. Cegolon L, Salata C, Weiderpass E, Vineis P, Palù G, Mastrangelo G. Human endogenous retroviruses and cancer prevention: evidence and prospects. BMC Cancer. 2013.
22. Golan M, Hizi A, Resau JH, Yaal-Hahoshen N, Reichman H, Keydar I, et al. Human Endogenous Retrovirus (HERV-K) Reverse Transcriptase as a Breast Cancer Prognostic Marker. Neoplasia (New York, NY). 2008;10(6):521-33.
23. Wang-Johanning F, Li M, Esteva FJ, Hess KR, Yin B, Rycaj K, et al. Human Endogenous Retrovirus Type K Antibodies and mRNA as Serum Biomarkers of Early-Stage Breast Cancer. International Journal of Cancer. 2014.
24. Prensner JR, Rubin MA, Wei JT, Chinnaiyan AM. Beyond PSA: The Next Generation of Prostate Cancer Biomarkers. Science Translational Medicine. 2012;4(127):127rv3-rv3.
25. Wang-Johanning F, Liu J, Rycaj K, Huang M, Tsai K, Rosen DG, et al. Expression of multiple human endogenous retrovirus surface envelope proteins in ovarian cancer. Int J Cancer. 2007;120(1):81-90.
26. Buscher K ,Trefzer U, Hofmann M, Sterry W, Kurth R, Denner J. Expression of human endogenous retrovirus K in melanomas and melanoma cell lines. Cancer research. 2005;65(10):4172-80.
27. Seifarth W, Baust C, Murr A, Skladny H, Krieg-Schneider F, Blusch J, et al. Proviral structure, chromosomal location, and expression of HERV-K-T47D, a novel human endogenous retrovirus derived from T47D particles. Journal of virology. 1998;72(10):8384-91.
28. Schiavetti F, Thonnard J, Colau D, Boon T, Coulie PG. A human endogenous retroviral sequence encoding an antigen recognized on melanoma by cytolytic T lymphocytes. Cancer research. 2002;62(19):5510-6.
29. Zhao J, Rycaj K, Geng S, Li M, Plummer JB, Yin B, et al. Expression of Human Endogenous Retrovirus Type K Envelope

endogenous retrovirus env genes in the blood of breast cancer patients. International journal of molecular sciences. 2014; 15(6):9173-83.

Protein is a Novel Candidate Prognostic Marker for Human Breast Cancer. Genes & cancer. 2011;2(9):914-22.

30. Rhyu DW, Kang YJ, Ock MS, Eo JW, Choi YH, Kim WJ, et al. Expression of human