



مقاله پژوهشی

شناسایی ژن‌های هاب کلیدی مرتبط با سلول‌های بنیادی سرطان سینه به منظور غلبه بر مقاومت به درمان

مبینا خورشیدی^{۱*}، حامد منوچهری^{۲*} ID، مهدی عالیخانی^۲، مریم عزت‌زاده^{۱*}

^۱ کمیته تحقیقات دانشجویی، دانشگاه علوم پزشکی بوشهر، بوشهر، ایران

^۲ گروه بیوتکنولوژی پزشکی، دانشکده پیراپزشکی، دانشگاه علوم پزشکی بوشهر، بوشهر، ایران

^۳ مرکز تحقیقات زیست فناوری دریایی خلیج فارس، پژوهشکده علوم زیست پزشکی خلیج فارس، دانشگاه علوم پزشکی بوشهر، بوشهر، ایران

چکیده

زمینه: سرطان سینه یکی از شایع‌ترین و کشنده‌ترین بدخیمی‌ها در زنان است. حضور سلول‌های بنیادی سرطانی (CSCs)، که در متاستاز، مقاومت درمانی و عود بیماری نقش کلیدی دارند، چالشی اساسی در درمان محسوب می‌شود. شناسایی اهداف درمانی اختصاصی مرتبط با CSCs از طریق رویکردهای زیست‌شناسی سیستمی می‌تواند به استراتژی‌های درمانی مؤثرتر منجر شود.

مواد و روش‌ها: سه مجموعه داده بیانی مربوط به سرطان سینه GSE7513 (سلول‌های بنیادی/ غیربنیادی سرطان)، GSE15852 (بافت‌های توموری/ نرمال)، و GSE76540 (سلول‌های مقاوم/ حساس به دوکسوروبیسین) از پایگاه GEO دریافت شد. تحلیل داده‌ها با ابزارهای GEO2R، DAVID، STRING و Cytoscape انجام گرفت. ژن‌های کلیدی بر اساس معیارهای شبکه انتخاب (دیتاست‌های GSE7513 و GSE76540) و با ژن‌های متفاوت بیان شده در GSE76540 مقایسه شدند. همچنین، بیان ژن‌ها، پیش‌بینی پاسخ به درمان و تعاملات دارو-ژن با ابزارهای ROC Plotter، TNMplot، و DGIdb بررسی شد. **یافته‌ها:** داده‌های بیانی استخراج‌شده از مجموعه داده‌ها به ترتیب ۱۴۴۶، ۳۴۴ و ۱۸۲۶ ژن را شامل شدند. تحلیل اشتراک ژن‌ها بین GSE7513 و GSE15852، ۷۵ ژن مشترک را شناسایی کرد. خروجی تحلیل شبکه برهمکنش پروتئین-پروتئین، ۳ کلاستر و ۷ هاب ژن بود که ۴ مورد آن با ژن‌های دارای بیان متفاوت در GSE76540 مشترک بود. ژن‌های *GATA3*، *AGR2* و *KRT19* بر اساس TNM انتخاب شدند. *KRT19* و *GATA3* با پاسخ بیماران به درمان ارتباط داشتند و بر اساس DGIdb، *GATA3* به صورت بالقوه می‌تواند هدف داروهای موجود باشد.

نتیجه‌گیری: این مطالعه نشان می‌دهد که *GATA3* می‌تواند به‌عنوان یک نشانگر زیستی برای پیش‌بینی پاسخ به درمان و هدف بالقوه درمانی سرطان سینه مطرح باشد.

پیام کلیدی: ژن‌های هاب کلیدی شناسایی شده (به‌طور خاص *GATA3* و *KRT19*) به‌عنوان اهداف بالقوه درمانی جهت مهار جمعیت سلول‌های بنیادی سرطان سینه سه‌گانه مطرح می‌باشند.

واژگان کلیدی:

نئوپلاسم سینه
سلول‌های بنیادی سرطانی
مقاومت به شیمی‌درمانی
زیست‌شناسی سیستمی
برهم‌کنش پروتئین-پروتئین

*نویسنده مسئول:

حامد منوچهری

Manoochery.hamed@gmail.com

دریافت: ۱۴۰۴/۰۱/۲۶
پذیرش: ۱۴۰۴/۰۲/۲۱



CrossMarck



10.61186/ismj.27.5.394



دانشگاه علوم پزشکی
و خدمات بهداشتی و درمانی بوشهر



دانشگاه علوم پزشکی
و خدمات بهداشتی و درمانی بوشهر



CrossMarck



10.61186/ismj.27.5.394

Original Article

Identification of Key Hub Genes Associated with Breast Cancer Stem Cells to Overcome Therapy Resistance

Mobina Khorshidi ^{1,2} , Hamed Manoochehri ^{3*} , Mahdi AAlikhani ², Maryam Ezatzadeh ^{1,2}

¹ Student Research Committee, Bushehr University of Medical Sciences, Bushehr, Iran

² Department of Medical Biotechnology, School of Paramedicine, Bushehr University of Medical Sciences, Bushehr, Iran

³ The Persian Gulf Marine Biotechnology Research Center, The Persian Gulf Biomedical Sciences Research Institute, Bushehr University of Medical Sciences, Bushehr, Iran

Abstract

Background: Breast cancer is one of the most common and fatal malignancies in women. The presence of cancer stem cells (CSCs), which play a crucial role in metastasis, therapeutic resistance, and disease recurrence, presents a major treatment challenge. Identifying CSCs-specific therapeutic targets through systems biology approaches can lead to more effective treatment strategies

Materials and Methods: Three gene expression datasets related to breast cancer— GSE7513 (Cancer stem/non-stem cells), GSE15852 (tumor/normal tissues), and GSE76540 (doxorubicin resistant/sensitive cells)— were obtained from the GEO database. Data were analyzed using GEO2R, DAVID, STRING, and Cytoscape. Hub genes were identified based on network parameters (GSE7513 and GSE15852 datasets) and compared with differentially expressed genes in GSE76540. Additionally, gene expression levels, treatment response prediction, and drug–gene interactions were evaluated using TNMplot, ROC Plotter, and DGIdb.

Results: Gene expression data from the datasets included 1446, 344, and 1826 DEGs in GSE7513, GSE15852, and GSE76540, respectively. Comparative analysis between GSE7513 and GSE15852 identified 75 common DEGs. Protein– protein interaction network analysis output was three clusters and seven hub genes, four of them overlapped with DEGs in GSE76540. *AGR2*, *GATA3*, and *KRT19* genes were selected based on TNM. *KRT19* and *GATA3* were associated with patients' response to treatment. According to the DGIdb, *GATA3* is a potentially druggable target with existing therapeutic compounds.

Conclusion: This study suggests that *GATA3* may serve as a biomarker for predicting treatment response and as a potential therapeutic target in breast cancer.

Keywords:

Breast Neoplasm
Cancer Stem Cells
Chemoresistance
Systems Biology
Protein– Protein Interaction

*Corresponding author:

Hamed Manoochehri
Manoochehry.hamed@gmail.com

Received: 2025/04/15
Accepted: 2025/05/11



مقدمه

سرطان سینه شایع‌ترین سرطان در زنان (۱)، یکی از علل مرگ‌ومیر و چهارمین سرطان کشنده در دنیا است. طبق داده‌های جهانی در سال ۲۰۲۲، ۲/۳ میلیون مورد جدید ابتلا به سرطان سینه ثبت شده است و ۶۷۰ هزار نفر از این بیماران جان خود را از دست داده‌اند (۲). یکی از چالش‌های بزرگ در درمان سرطان سینه، هتروژن بودن این بیماری است. به طوری که این بیماران بر اساس بیان گیرنده‌های استروژن، پروژسترون و *HER2*^۱ (گیرنده ۲ فاکتور رشد اپیدرمی انسانی) دسته‌بندی می‌شود. در حالی که حدود یک ششم (۲۰-۱۵ درصد) از کل بیماران هیچ یک از این گیرنده‌ها را بیان نمی‌کنند و به این گروه سه‌گانه منفی^۲ گفته می‌شود. سرطان سینه سه‌گانه منفی (TNBC) ۳۰ تا ۴۰ درصد از مرگ و میرهای ناشی از سرطان سینه را شامل می‌شود. ۵۰ درصد از بیماران TNBC استیج ۱ تا III دچار عود می‌شوند و ۳۷ درصد آنان در ۵ سال اول بعد از جراحی فوت می‌کنند که نشان‌دهنده پیش‌آگهی بسیار ضعیف این بیماری است (۳). بیمارانی که گیرنده هورمونی مثبت دارند می‌توانند تحت هورمون درمانی قرار گیرند. برای بیماران *HER2* مثبت، داروهایی مانند Letrozole و مهارکننده‌های آروماتاز (مثل Tamoxifen)، لاپاتینیب و تراستوزوماب تجویز می‌شود و ممکن است مهارکننده‌های کیناز وابسته به سیکلین و مهارکننده‌های پروتئین مرگ سلولی برنامه‌ریزی شده نیز به آن‌ها افزوده شود. اما برای بیماران سه‌گانه منفی، داروی هدفمند وجود ندارد و تنها روش درمانی در دسترس شیمی درمانی است. اما با این وجود تمام بیماران به شیمی درمانی پاسخ نمی‌دهند و ممکن است طی روند درمان، مقاومت به شیمی درمانی ایجاد شود. همچنین این روش درمانی می‌تواند عوارض جانبی جدی در بیماران ایجاد کرده و کیفیت زندگی آن‌ها را تحت تأثیر قرار دهد (۴).

تحقیقات نشان داده‌اند که یکی از دلایل اصلی مقاومت به درمان‌های رادیوتراپی و همچنین شیمی درمانی در سرطان حضور جمعیت سلولی به نام سلول‌های بنیادی سرطانی می‌باشد (۵). در سرطان سینه نیز، وجود

سلول‌های بنیادی سرطانی عامل پیشرفت، متاستاز و مقاومت به درمان است (۶). در هنگام درمان، سلول‌های بنیادی سرطان سینه با وارد شدن و باقی ماندن در فاز G0 می‌توانند از درمان فرار کنند (۷). همچنین، این سلول‌ها با ترشح پروتئازها باعث تخریب غشای سلولی و ماتریکس خارج سلولی شده و به این صورت به فرآیند متاستاز کمک می‌کنند (۸). همچنین تولید فاکتورهای رشد و فاکتورهای رگ‌زایی توسط این سلول‌ها باعث بقای سلول‌های سرطانی می‌شود (۹). بنابراین هدف قرار دادن سلول‌های بنیادی سرطانی جهت غلبه بر مقاومت به درمان و متاستاز یکی از راه‌های مؤثر در درمان سرطان سینه بوده و شناسایی و مطالعه مسیرهای مولکولی این سلول‌ها می‌تواند گامی بزرگ در جهت درمان بهتر سرطان سینه باشد.

امروزه با در دسترس بودن داده‌های اومیکس (از جمله داده‌های میکروآرای^۳)، امکان آنالیز بیان تعداد زیادی ژن به صورت همزمان فراهم شده است. این داده‌ها دارای حجم زیاد و پیچیدگی بالایی می‌باشند و از این جهت روش آنالیز و تفسیر آن‌ها بسیار مهم بوده و باید به گونه‌ای انجام شود که نتایج مثبت کاذب به حداقل کاهش یابد (۱۰ و ۱۱). بنابراین، برخلاف تحقیقات سنتی بیولوژی مولکولی که عمدتاً ژن‌ها را به صورت جداگانه مورد بررسی قرار می‌دهد، جهت آنالیز این نوع داده‌ها، روش‌های آنالیز مبتنی بر شبکه و با استفاده از اصول زیست‌شناسی سیستمی بسیار مناسب‌تر می‌باشد. زیرا ژن‌ها به طور مستقل عمل نمی‌کنند، بلکه با یکدیگر ارتباط دارند و به عنوان بخشی از یک شبکه‌ای از تعاملات زیستی با یکدیگر کار می‌کنند و یک اثر تجمعی/ برآیند ایجاد می‌کنند که حاصل تعاملات پیچیده آن‌ها است. این اثر تجمعی/ برآیند است که می‌تواند منجر به یک بیماری یا شرایط خاص گردد (۱۱). بنابراین، در مطالعه‌ی حاضر، از روش‌های زیست‌شناسی سیستمی و آنالیز شبکه برای تحلیل دقیق داده‌های میکروآرای و شناسایی مسیرها و اهداف مولکولی مرتبط با سلول‌های بنیادی سرطان سینه استفاده شده است. این مطالعه با هدف شناسایی ژن‌های کلیدی مرتبط با سلول‌های بنیادی

¹ Epidermal growth factor receptor (*HER2*)

² TNBC

³ Microarray

سطح فرآیندهای زیستی (Biological Process-BP)، عملکردهای مولکولی (Molecular Function-MF)، و اجزای سلولی (Cellular Component-CC) در دیتابیس DAVID استفاده شد. برای شناسایی مسیرهای زیستی مرتبط با ژن‌های مورد مطالعه، تحلیل مسیرهای زیستی^۷ با استفاده از پایگاه داده DAVID و استناد به اطلاعات موجود در پایگاه داده Reactome انجام شد. برای تحلیل ارتباطات ژن-بیماری، از پایگاه داده DAVID و استناد به اطلاعات موجود در پایگاه داده DisGeNET استفاده شد. در تمامی مراحل آنالیز غنی‌سازی ژن، ۱۰ مورد برتر نتایج با Adjusted P-value کمتر از ۰/۰۵ انتخاب شدند.

آنالیز شبکه برهمکنش پروتئین-پروتئین

برای بررسی روابط پروتئینی بین این ژن‌ها، شبکه برهمکنش پروتئینی (PPIN) با استفاده از پایگاه داده STRING^۸ به دست آمد. این شبکه برای نمایش و آنالیز برهمکنش پروتئین‌ها و شناخت کلاسترهای^۹ مرتبط ایجاد شد. جهت ترسیم شبکه، سطح اطمینان متوسط (Medium confidence=۰/۰۴) و $p\text{-value} < 0.05$ در نظر گرفته شد. در ادامه فایل شبکه از پایگاه STRING گرفته شد و با استفاده از نرم‌افزار Cytoscape (ویرایش ۳/۱۰/۳) آنالیز شد. برای شناسایی ژن‌های هاب سه پارامتر توپولوژیکی درجه (Degree)، مرکزیت نزدیکی (Closeness Centrality) و مرکزیت بینابینی (Betweenness Centrality) محاسبه شد. به منظور شناسایی کلاسترهای عملکردی در شبکه، از الگوریتم MCODE (Molecular Complex Detection) در Cytoscape استفاده گردید. پارامترهای تنظیم شده در این تحلیل شامل ضریب خوشه‌بندی ($\text{Clustering Coefficient}=0.406$)، حداقل درجه ($\text{Degree Cutoff}=2$)، حد آستانه امتیاز نود ($\text{Node Score Cutoff}=0.2$)، $K\text{-Core}=2$ ، حداکثر عمق ($\text{Max. Depth}=100$) و امتیاز $\text{MCODE} \geq 4$ بود.

سرطانی در سرطان سینه، از طریق تحلیل داده‌های میکروآرای با رویکرد زیست‌شناسی سیستمی و آنالیز شبکه‌ای انجام شده است.

مواد و روش‌ها

در این مطالعه، از داده‌های بیانی موجود در پایگاه GEO^۴ و ابزارهای بیوانفورماتیکی و زیست‌شناسی سیستمی استفاده گردید.

داده‌های بیانی و تجزیه و تحلیل داده‌ها

سه دیتاست GSE7513-۱ (تعداد ۲۹ نمونه- شامل سلول‌های بنیادی سرطان سینه با تعداد ۱۴ نمونه و سلول‌های غیربنیادی سرطان سینه با تعداد ۱۵ نمونه)، ۲- GSE15852 (تعداد ۸۶ نمونه- شامل بافت توموری سرطان سینه با تعداد ۴۳ نمونه و بافت نرمال با تعداد ۴۳ نمونه) و ۳- GSE76540 (تعداد ۶ نمونه- شامل سلول‌های سرطان سینه مقاوم به داروی دوکسوروبیسین با تعداد ۳ نمونه و سلول‌های سرطان سینه حساس به داروی دوکسوروبیسین با تعداد ۳ نمونه) از پایگاه داده GEO^۵ به دست آمد. داده‌ها با ابزار GEO2R آنالیز شد. فقط ژن‌های کدکننده پروتئین در نظر گرفته شد و ژن‌های مشخصه‌یابی نشده حذف شدند. معیارهای ارزیابی برای تشخیص ژن‌های دارای بیان متفاوت شامل $\text{Adjusted } p\text{-value} < 0.05$ و $|\text{Log fold change (log FC)}| > 1$ برای دیتاست‌های ۱ و ۲، و $\text{Adjusted } p\text{-value} < 0.05$ و $|\text{Log fold change (log FC)}| > 3$ برای دیتاست ۳ بود.

آنالیز غنی‌سازی ژن‌ها

به منظور آنالیز غنی‌سازی ژن و تحلیل مسیرهای مولکولی و شناخت عملکرد ژن‌ها در مسیرهای مختلف، ژن‌های مشترک (دیتاست ۱ و ۲) با استفاده از پایگاه داده DAVID^۶ آنالیز شدند. برای تحلیل عملکردی ژن‌های مورد مطالعه، از تحلیل ژن انتولوژی (Gene ontology) در سه

⁴ Gene Expression Omnibus

⁵ <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/geo/>

⁶ <https://davidbioinformatics.nih.gov/>

⁷ Pathway Analysis

⁸ <https://string-db.org/>

⁹ Cluster

مقایسه بیان ژن‌ها

برای تحلیل بیان ژن‌ها و بررسی تغییرات بیان آن‌ها بین نمونه بافت‌های نرمال، توموری و متاستاتیک، از ابزار آنالیز TNMplot^{۱۰} استفاده شد. در این آنالیز، p-value کمتر از ۰/۰۵ در نظر گرفته شد.

پیش‌بینی پاسخ به درمان

جهت بررسی ارتباط بین ژن‌های (هاب) با پاسخ به درمان بیماران مبتلا به سرطان سینه از دیتابیس ROC Plotter^{۱۱} استفاده شد تا قابلیت هاب ژن در پیش‌بینی پاسخ به درمان مشخص شود. معیار بررسی پاسخ به درمان، پاسخ کامل پاتولوژیک بود. بر این اساس بیماران به دو دسته تقسیم شدند: بیمارانی که از نظر پاتولوژیک کاملاً به درمان پاسخ دادند در مقابل بیمارانی که بعد از درمان مقداری از بیماری باقی مانده است. همچنین p-value کمتر از ۰/۰۵ در نظر گرفته شد. از این دیتابیس دو نمودار گرفته شد: (۱) نمودار مقایسه بیان ژن بین دو گروه بیماران (۲) نمودار ROC Plotter^{۱۲}. همچنین ارزیابی قدرت پیش‌بینی ژن‌ها در پاسخ به درمان با استفاده از معیار AUC در تحلیل ROC انجام شد. تفسیر قدرت تفکیک بر اساس رده‌بندی استاندارد انجام شد. AUC در بازه ۰/۵-۰/۶ به‌عنوان بسیار ضعیف، ۰/۶-۰/۷ ضعیف، ۰/۷-۰/۸ قابل قبول، ۰/۸-۰/۹ خوب و ۰/۹-۱ بسیار قوی در نظر گرفته شد (۱۲).

بررسی تعامل دارو-ژن

برای شناسایی داروهای مرتبط با ژن‌های کاندید از پایگاه داده^{۱۳} DGIdb (Drug-Gene Interaction Database) استفاده شد. DGIdb یک موتور جستجوی برای تعاملات دارو-ژن و شناسایی ژن‌های قابل هدف‌گذاری دارویی است. داروها بر اساس Interaction Score انتخاب شدند. در این دیتابیس Interaction Score بر اساس پارامترهایی چون نسبت میانگین تعداد هم‌تایان ژنی برای تمامی داروها نسبت به هم‌تایان ژنی خاص یک دارو و همچنین نسبت میانگین تعداد داروهای مرتبط با ژن‌ها نسبت به داروهای مرتبط با یک ژن خاص محاسبه می‌شود. Interaction Score به‌عنوان معیاری برای اولویت‌بندی داروهای مرتبط با ژن‌های هدف در نظر گرفته شد.

یافته‌ها

داده‌های بیانی و آنالیز داده‌ها

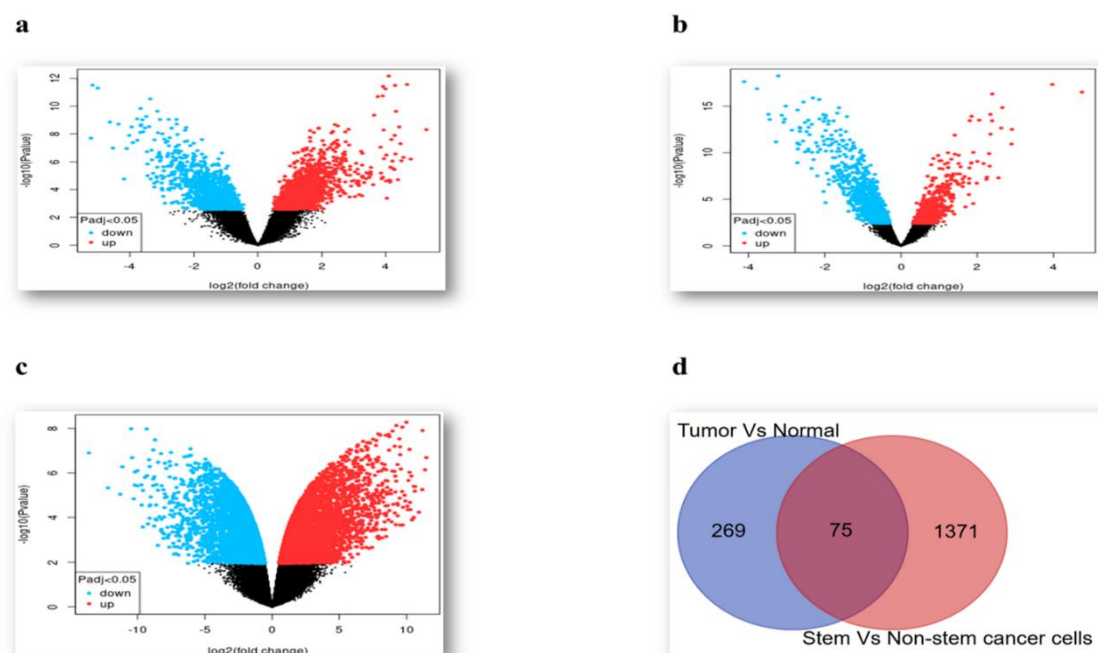
با استفاده از ابزار GEO2R، از مجموعه داده GSE7513 تعداد ۱۴۴۶، از GSE15852 تعداد ۳۴۴ و از GSE76540 تعداد ۱۸۲۶ ژن با بیان متفاوت شناسایی شد (شکل ۱a تا ۱c). پس از استخراج ژن‌ها، تحلیل اشتراک ژن‌ها با استفاده از ون دیاگرام بین دو دیتاست GSE7513 و GSE15852 انجام شد که در نهایت ۷۵ ژن مشترک تغییر بیان یافته بدست آمد (شکل ۱d).

¹⁰ <https://tnmplot.com/>

¹¹ <https://rocplot.org/>

¹² Receiver Operating Characteristic (ROC)

¹³ <https://dgidb.org/https://dgidb.org/>



شکل ۱. نمودار Volcano Plot برای تحلیل دیفرانسیل بیان ژن‌ها و ون دیگرگرم. a) GSE7513 (سلول‌های بنیادی سرطان سینه و سلول‌های سرطانی غیربنیادی)- b) GSE15852 (بافت توموری و نرمال سینه)- c) GSE76540 (سلول‌های سرطان سینه مقاوم به داروی دوکسوروبیسین و حساس به داروی دوکسوروبیسین). محور افقی نمایانگر مقدار \log_2 (fold change) است که تغییرات بیان ژن‌ها را بین گروه‌های مختلف مقایسه می‌کند. محور عمودی مقدار \log_{10} (p-value) را نشان می‌دهد که نشان‌دهنده سطح معناداری تغییرات بیان ژن‌هاست. نقاط قرمز نشان‌دهنده ژن‌هایی هستند که به‌طور معناداری افزایش بیان داشته‌اند، نقاط آبی نشان‌دهنده ژن‌هایی با کاهش بیان معنادار، و نقاط مشکی ژن‌هایی هستند که تغییرات بیان معناداری نداشته‌اند. d) نمودار اشتراک ژن‌ها بین دیتاست‌های GSE7513 و GSE15852.

Fig 1. Volcano plot for differential gene expression analysis and a Venn diagram. a) GSE7513 (breast cancer stem cells and non-stem cancer cells)- b) GSE15852 (breast tumor and normal tissue)- c) GSE76540 (doxorubicin-resistant and doxorubicin-sensitive breast cancer cells). The horizontal axis represents \log_2 (fold change), which compares gene expression changes between different groups. The vertical axis shows \log_{10} (p-value), indicating the statistical significance of gene expression changes. Red dots represent genes with significantly increased expression, blue dots represent genes with significantly decreased expression, and black dots indicate genes with no significant change in expression. d) Venn diagram showing the overlap of genes between datasets GSE7513 and GSE15852.

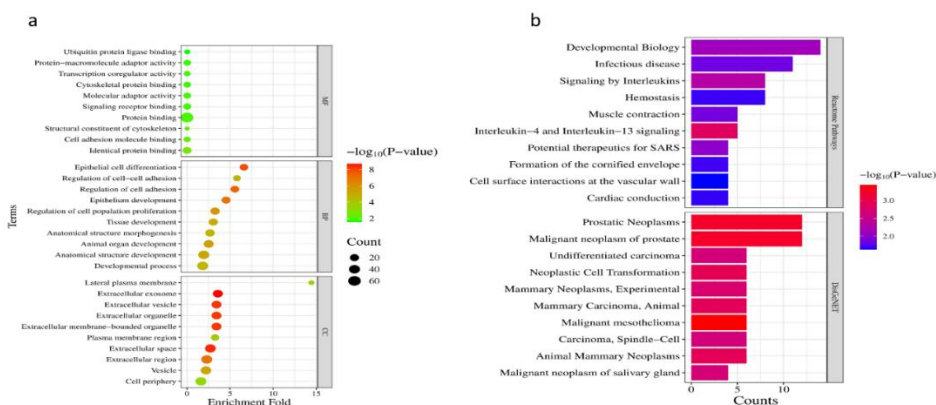
بودند. در بخش فرآیندهای زیستی (Biological Process)، ژن‌های مورد بررسی در فرآیندهایی از جمله تمایز سلول‌های اپیتلیال، تنظیم چسبندگی سلول-سلول و تنظیم تکثیر جمعیت سلولی مشارکت داشتند. همچنین، در بررسی اجزای سلولی (Cellular Component)، برخی از محل‌های سلولی مرتبط با این ژن‌ها شامل غشای جانبی پلاسمایی، آگزوزوم خارج سلولی، وزیکول خارج سلولی و ناحیه غشای پلاسمایی بودند (شکل ۲۸). تحلیل مسیرهای زیستی با استفاده از پایگاه داده Reactome نشان داد که ژن‌های مورد بررسی در مسیرهای مختلفی نقش دارند. از مهم‌ترین مسیرهای زیستی مرتبط می‌توان به

آنالیز غنی‌سازی ژن

آنالیز غنی‌سازی ژن‌ها با استفاده از دیتابیس DAVID نشان داد که این ۷۵ ژن تغییر بیان یافته مشترک در عملکردهای مولکولی، فرآیندهای بیولوژیکی و اجزای سلولی متعددی نقش دارند (شکل ۲). برای هر یک از این دسته‌ها، ۱۰ مورد برتر شناسایی شده است که در ادامه برخی از آن‌ها ذکر شده‌اند. در بخش عملکردهای مولکولی (Molecular Function)، مهم‌ترین عملکردهای شناسایی شده شامل اتصال به یوبی‌کوئیتین پروتئین لیگاز، فعالیت پروتئین آداپتور، فعالیت هم تنظیم‌کنندگی رونویسی، اتصال به پروتئین اسکلت سلولی، فعالیت آداپتور مولکولی و اتصال به گیرنده‌های پیام‌رسانی

داد که ژن‌های منتخب در بیماری‌های مختلفی، به‌ویژه نئوپلاسم پروستات، نئوپلاسم بدخیم پروستات، کارسینوما تمایز یافته و تبدیل نئوپلاستیک سلولی نقش دارند (شکل ۲b).

زیست‌شناسی تکوینی، بیماری‌های عفونی، سیگنالینگ توسط اینترلوکین‌ها، هموستاز، انقباض عضلانی، سیگنالینگ اینترلوکین-۴ و اینترلوکین-۱۳ و درمان‌های بالقوه برای SARS^{۱۴} اشاره کرد. همچنین، تحلیل ارتباط ژن-بیماری با استفاده از پایگاه داده DisGeNET نشان

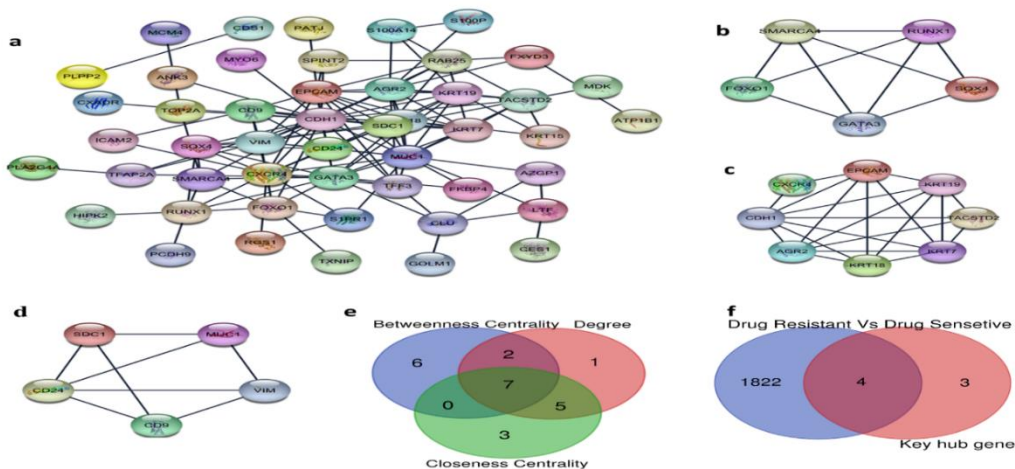


شکل ۲. آنالیز غنی‌سازی ژن با استفاده از پایگاه DAVID. (a) تحلیل ژن آنتولوژی در سه سطح فرایندهای زیستی (Biological Process-BP)، عملکردهای مولکولی (Molecular Function-MF) و اجزای سلولی (Cellular Component-CC). (b) تحلیل مسیرهای زیستی با استفاده از پایگاه داده Reactome و تحلیل ارتباط ژن-بیماری با پایگاه داده DisGeNET.

مرکزیت بینابینی (Betweenness Centrality) ۱۵ ژن برتر انتخاب شد (هاب ژن‌ها) و پس از اشتراک گرفتن آن‌ها، ۷ هاب ژن کلیدی (*CDH1*، *AGR2*، *MUC1*)، *SDC1*، *CXCR4*، *KRT19*، *GATA3* شناسایی شدند (شکل ۳e، جدول ۱). پس از اشتراک‌گیری این ۷ هاب ژن کلیدی با دیتاست GSE76540، تعداد ۴ ژن با نام‌های *CDH1* و *KRT19*، *GATA3*، *AGR2* شناسایی شدند (شکل ۳f).

آنالیز شبکه برهمکنش پروتئین-پروتئین
 شبکه برهمکنش پروتئین-پروتئین ترسیم شده دارای ۱۴۲ edge و $p\text{-value} < 10^{-16}$ بود. ژن‌هایی (نودهایی) که با شبکه اصلی ارتباط نداشتند جهت آنالیز در نظر گرفته نشدند (شکل ۳a). با استفاده از نرم‌افزار Cytoscape سه خوشه اصلی شناسایی شد که این خوشه‌ها بیشترین تعامل را بین پروتئین‌ها نشان می‌دهند (شکل ۳b-۳d). پس از آنالیز شبکه اصلی، براساس هر پارامتر درجه (Degree)، مرکزیت نزدیکی (Closeness Centrality) و

¹⁴ Severe Acute Respiratory Syndrome



شکل ۳. تحلیل شبکه برهمکنش پروتئینی (PPI) با STRING و Cytoscape. (a) شبکه برهمکنش پروتئینی ژن‌های مشترک. (b) خوشه اول (شامل ۵ نود و ۹ edge). (c) خوشه دوم (شامل ۸ نود و ۲۱ edge). (d) خوشه سوم (شامل ۵ نود و ۸ edge). (e) ون دیاگرام جهت شناسایی هاب ژن‌های کلیدی. (f) ون دیاگرام جهت شناسایی هاب ژن‌های کلیدی مشترک با دیتاست GSE76540 (سلول‌های مقاوم به داروی دوکسوروبیسین و حساس به داروی دوکسوروبیسین).

Fig 3. Protein-protein interaction (PPI) network analysis using STRING and Cytoscape. a) PPI network of common genes. b) First cluster (including 5 nodes and 9 edges). c) Second cluster (including 8 nodes and 21 edges). d) Third cluster (including 5 nodes and 8 edges). e) Venn diagram for identifying key hub genes. f) Venn diagram for identifying common key hub genes shared with dataset GSE76540 (doxorubicin-resistant and doxorubicin-sensitive cells).

جدول ۱. ویژگی‌ها و پارامترهای مربوط به ژن‌های هاب کلیدی در شبکه برهمکنش پروتئین-پروتئین

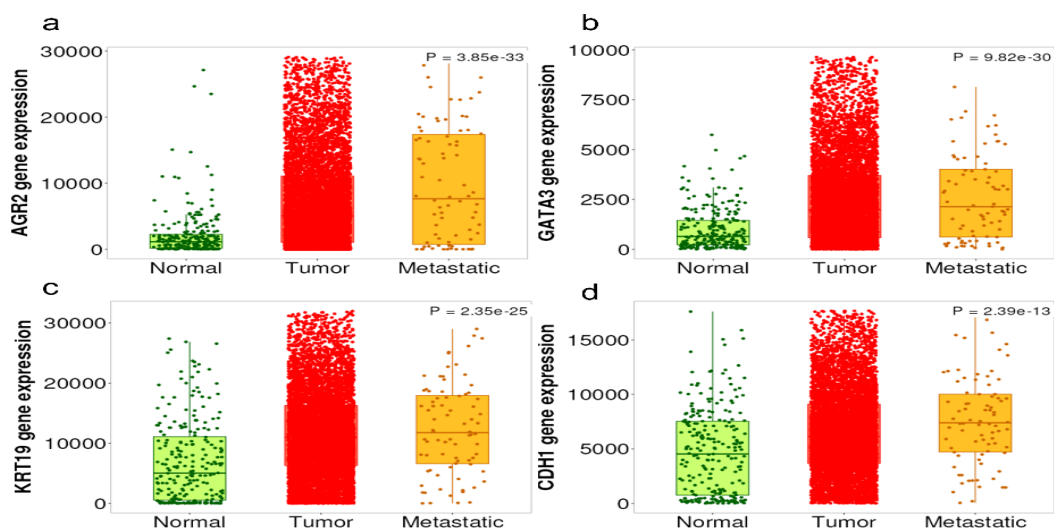
ژن‌های هاب کلیدی	درجه	مرکزیت نزدیکی	مرکزیت بینابینی
<i>MUC1</i>	۱۷	۰/۵۶۰۹۷۵۶۱	۰/۱۶۴۵۴۷۶۵۴
<i>AGR2</i>	۱۳	۰/۵۰۵۴۹۴۵۰۵	۰/۱۱۲۸۵۳۴۳۱
<i>CDH1</i>	۲۵	۰/۶۳۸۸۸۸۸۸۹	۰/۳۵۲۴۹۳۹۵۶
<i>GATA3</i>	۱۵	۰/۵۴۷۶۱۹۰۴۸	۰/۱۳۷۴۵۴۹۶
<i>KRT19</i>	۱۲	۰/۵۱۱۱۱۱۱۱	۰/۰۴۰۴۶۳۹۳
<i>CXCR4</i>	۱۵	۰/۵۲۸۷۳۵۶۳۲	۰/۱۱۳۲۵۹۹۷۱
<i>SDC1</i>	۱۰	۰/۴۸۹۳۶۱۷۰۲	۰/۰۳۳۴۷۹۴۴۳

MUC1 (Mucin 1), *AGR2* (Anterior Gradient 2), *CDH1* (Cadherin 1), *GATA3* (GATA Binding Protein 3), *KRT19* (Keratin 19), *CXCR4* (C-X-C Motif Chemokine Receptor 4), *SDC1* (Syndecan 1)

ژن در بافت تومور اولیه و متاستاز نسبت به بافت نرمال بیان افزایشی داشته است ($p\text{-value} = 2/25 \times 10^{-35}$) (شکل ۴c). در مورد ژن *CDH1* نیز، نتایج نشانگر بیان افزایشی آن ژن در بافت تومور اولیه و متاستاز نسبت به بافت نرمال بود ($p\text{-value} = 2/39 \times 10^{-33}$) (شکل ۴d). سه ژن *AGR2*، *GATA3* و *KRT19* با توجه به کمترین مقدار p-value در TNM plot برای ادامه آنالیزها انتخاب شدند. (شکل ۴)

مقایسه بیان ژن توسط TNMplot

تحلیل بیان ژن *AGR2* با استفاده از TNMplot نشان داد که سطح بیان این ژن در بافت تومور اولیه و متاستاز نسبت به بافت نرمال به صورت افزایشی می‌باشد (شکل ۴a). بیان *GATA3* در بافت تومور اولیه و متاستاز نسبت به بافت نرمال به صورت افزایشی می‌باشد ($p\text{-value} = 3/85 \times 10^{-33}$) (شکل ۴b). در مورد ژن *KRT19*، نتایج نشان داد که این



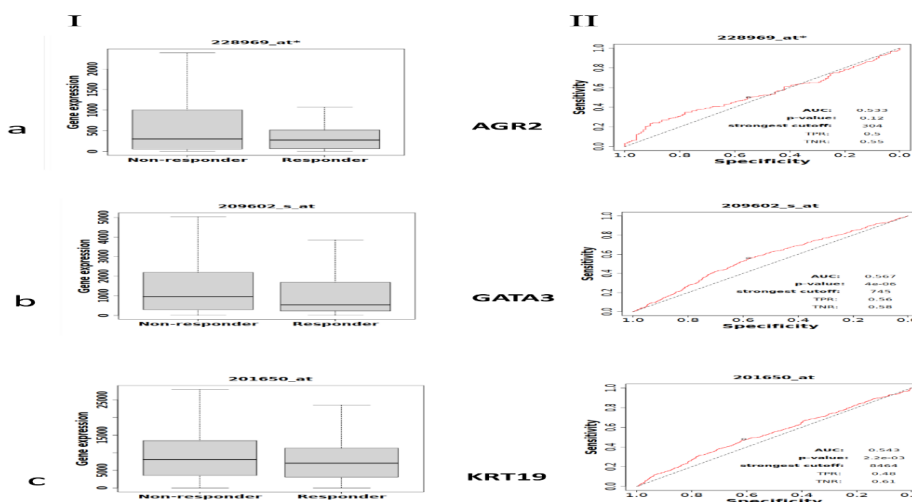
شکل ۴. نمودار جعبه‌ای حاصل از آنالیز TNMplot. (a) بیان ژن *AGR2* در بافت‌های نرمال، توموری و متاستاتیک. (b) بیان ژن *GATA3* در بافت‌های نرمال، توموری و متاستاتیک. (c) بیان ژن *KRT19* در بافت‌های نرمال، توموری و متاستاتیک. (d) بیان ژن *CDH1* در بافت‌های نرمال، توموری و متاستاتیک

Fig 4. Box plots generated from TNMplot analysis. a) Expression of *AGR2* in normal, tumor, and metastatic tissues. b) Expression of *GATA3* in normal, tumor, and metastatic tissues. c) Expression of *KRT19* in normal, tumor, and metastatic tissues. d) Expression of *CDH1* in normal, tumor, and metastatic tissues

و ویژگی (۰/۵۸) نیز نشان‌دهنده عملکرد بهتر این ژن نسبت به *AGR2* است. نقطه برش بهینه برای *GATA3* مقدار ۷۴۵ تعیین گردید. بر اساس آنالیز بیان ژن، کاهش بیان *GATA3* با پاسخ بهتر به درمان ارتباط داشت (شکل ۵b). ژن *KRT19* با مقدار $p\text{-value}=9/9 \times 10^{-6}$ (شکل ۵c) و $AUC=0/543$ و $p\text{-value}=2/2 \times 10^{-3}$ ارتباط آماری معناداری با پاسخ بیماران به درمان نشان داد، اما مقدار *AUC* پایین حاکی از توانایی پیش‌بینی ضعیف این ژن است. مقادیر حساسیت (۰/۴۸) و ویژگی (۰/۶۱) نشان می‌دهند که این ژن از نظر ویژگی عملکرد بهتری نسبت به حساسیت دارد. نقطه برش بهینه برای این ژن مقدار ۸۴۶۴ تعیین شد. نتایج آنالیز بیان ژن نشان داد که کاهش بیان *KRT19* با پاسخ بهتر به درمان ارتباط دارد (شکل ۵c) ($p\text{-value}=0/005$).

پیش‌بینی پاسخ به درمان

بررسی آنالیز پاسخ به درمان با ROC Plotter نشان داد که ژن *AGR2* با مقدار $AUC=0/533$ و $p\text{-value}=0/12$ فاقد قدرت تفکیک قابل‌قبول بین بیماران پاسخ‌دهنده و غیر پاسخ‌دهنده به درمان است. مقادیر حساسیت (۰/۵) و ویژگی (۰/۵۵) نیز این یافته را تأیید می‌کنند. نقطه برش بهینه برای این ژن ۳۰۴ تعیین شد. تحلیل بیان ژن نیز نشان داد که سطح بیان ژن *AGR2* در افراد با و بدون پاسخ به درمان تفاوت معناداری ندارد ($p\text{-value}>0/05$) (شکل ۵a). ژن *GATA3* دارای مقدار $AUC=0/567$ بود که نشان‌دهنده قدرت پیش‌بینی ضعیف آن در پیش‌بینی پاسخ به درمان است. با این حال، مقدار $p\text{-value}=4 \times 10^{-6}$ نشان‌دهنده ارتباط معنادار این ژن با پاسخ بیماران به درمان است. مقادیر حساسیت (۰/۵۶)



شکل ۵. توانایی هاب ژن‌های کلیدی در پیش‌بینی پاسخ به درمان. (ا) نمودار مقایسه بیان ژن بین دو گروه بیماران. (II) نمودار ROC. (a) نمودار مقایسه بیان ژن و منحنی ROC برای ژن *AGR2*. (b) نمودار مقایسه بیان ژن و منحنی ROC برای ژن *GATA3*. (c) نمودار مقایسه بیان ژن و منحنی ROC برای ژن *KRT19*.

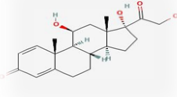
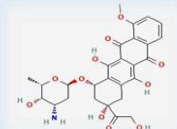
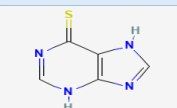
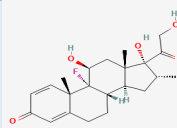
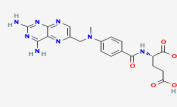
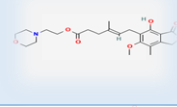
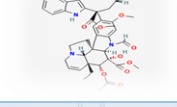
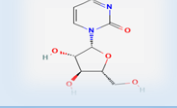
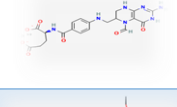
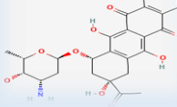
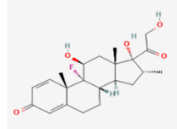
Fig 5. Predictive ability of key hub genes for treatment response prediction. I) Gene expression comparison between two patient groups. II) ROC curve. a) Gene expression comparison and ROC curve for *AGR2*. b) Gene expression comparison and ROC curve for *GATA3*. c) Gene expression comparison and ROC curve for *KRT19*.

هدف است. داروهایی با امتیاز تعامل بالاتر، احتمال تأثیرگذاری بیشتری بر عملکرد ژن مورد نظر دارند. در این‌میان، داروهایی مانند پردنیزولون، دوکسوروبیسین هیدروکلراید، مرکاپتوپورین و مایکوفنولات موقتیل دارای مقادیر Interaction Score بالاتری بوده و می‌توانند گزینه‌های بالقوه‌ای برای مهار این ژن‌ها در سرطان سینه باشند. جزئیات بیشتر تعاملات در جدول ۲ ارائه شده است. جدول ۲. فهرست تعاملات دارو-ژن استخراج شده از پایگاه DGIdb. شامل ژن‌های مورد مطالعه، داروهای مرتبط همراه با امتیاز تعامل (Interaction Score) و بیماری‌هایی که این داروها برای درمان آن‌ها مورد استفاده قرار می‌گیرند.

تعامل دارو-ژن

یافته‌های حاصل از تحلیل تعاملات دارو-ژن با استفاده از پایگاه داده DGIdb نشان داد که ژن‌های *GATA3* و *KRT19* دارای داروهای مرتبط هستند. بررسی‌های این مطالعه نشان داد که ژن *GATA3* دارای تعاملات متعددی با داروهای سرطانی و داروهای تعدیل‌کننده سیستم ایمنی است. از جمله پردنیزولون، دوکسوروبیسین، دگزامتازون، متوترکسات و سیتارابین که برخی از آن‌ها در درمان سرطان‌های مختلف، از جمله سرطان سینه، لنفوم و لوسمی مورد استفاده قرار می‌گیرند. ژن *KRT19* نیز دارای تعامل با دگزامتازون بود. مقادیر Interaction Score محاسبه شده برای هر دارو نشان‌دهنده میزان شواهد و قدرت تعامل بین دارو و ژن

جدول ۲. فهرست تعاملات دارو- ژن استخراج شده از پایگاه DGIdb. شامل ژن‌های مورد مطالعه، داروهای مرتبط همراه با امتیاز تعامل (Interaction Score) و بیماری‌هایی که این داروها برای درمان آن‌ها مورد استفاده قرار می‌گیرند.

ژن	دارو تأیید شده (برگرفته شده از DGIdb)	بیماری / اندیکاسیون / کاربرد	ساختار دارو (برگرفته شده از pubchem)	Interaction Score	منبع
<i>GATA3</i>	پردنیزولون (Prednisolone)	به‌عنوان ضدالتهاب و سرکوب‌کننده سیستم ایمنی در شرایطی همچون اختلالات غدد درون‌ریز، روماتیسمی، آلرژیک، پوستی، چشمی، تنفسی، خونی، نئوپلاستیک و دستگاه گوارش		۰/۱۹۶۲	(۱۳)
<i>GATA3</i>	دوکسوروبیسین هیدروکلراید (Doxorubicin Hydrochloride)	سرطان پستان، ریه، معده، تخمدان، تیروئید، لنفوم غیرهوجکین و هوچکین، مولتیپل میلوم، سارکوم و سرطان‌های کودکان		۰/۰۳۷۱	(۱۴)
<i>GATA3</i>	مرکاپتوپورین (Mercaptopurine)	لوسمی‌ها و اختلالات خودایمنی التهابی		۰/۱۲۲۱	(۱۵)
<i>GATA3</i>	دگزامتازون (Dexamethasone)	مولتیپل اسکلروزیس، آلرژی، التهاب، شوک، آسم، درمانیت، Covid-19		۰/۰۶۴۶	(۱۶)
<i>GATA3</i>	متوترکسات (Methotrexate)	بیماری‌های نئوپلاستیک و خودایمنی		۰/۰۴۹۹	(۱۷)
<i>GATA3</i>	مایکوفنولات موفتیل (Mycophenolate) (Mofetil)	سرکوب‌کننده سیستم ایمنی در پیوند اندام		۰/۱۷۱۷	(۱۸)
<i>GATA3</i>	وین کریستین (Vincristine)	لوسمی، لنفوم، نوروبلاستوما و تومور ویلمز، تومورهای تروفوبلاستیک حاملگی، مولتیپل میلوما، سرطان تخمدان، لنفوم اولیه، سرطان ریه سلول کوچک		۰/۰۶۷۸	(۱۹)
<i>GATA3</i>	سیتارابین (Cytarabine)	لوسمی حاد میلوئیدی (AML)، لوسمی حاد لنفوبلاستیک (ALL)، لنفوم غیرهوجکینی، لوسمی مزمن میلوئیدی (CML)		۰/۰۶۸۶	(۲۰)
<i>GATA3</i>	لوکوپورین کلسیم (Leucovorin) (Calcium)	بعد از درمان با متوترکسات، سرطان پیشرفته مری، سرطان پیشرفته معده، سرطان پیشرفته پانکراس		۰/۱۵۲۶	(۲۱)
<i>GATA3</i>	دانوروبیسین لیپوزومی (Liposomal) (Daurorubicin)	لوسمی حاد میلوئیدی (AML)، لوسمی حاد لنفوبلاستیک (ALL)		۰/۰۶۰۳	(۲۲)
<i>KRT19</i>	دگزامتازون (Dexamethasone)	مولتیپل اسکلروزیس، آلرژی، التهاب، شوک، آسم، درمانیت، Covid-19		۰/۰۶۱۴۱	(۱۶)

بحث

این مطالعه باهدف شناسایی ژن‌های دارای بیان متفاوت در نمونه‌های مختلف سرطان سینه و آنالیز آن‌ها در شبکه برهمکنش پروتئین- پروتئین به منظور شناسایی اهداف درمانی بالقوه انجام شد. داده‌های مورد استفاده از مجموعه‌های مختلف (GSE7513، GSE15852، GSE76540) پایگاه GEO استخراج شد که نشان‌دهنده تغییرات قابل توجه در بیان ژن‌ها در شرایط مختلف بود. ابتدا، بررسی تغییرات بیان ژن‌ها با استفاده از ابزار GEO2R انجام شد و ژن‌های با تغییرات بیان معنادار شناسایی شدند. شناسایی ۷۵ ژن تغییر بیان یافته مشترک بین دو مجموعه داده GSE7513 و GSE15852 نشان داد که این ژن‌ها ممکن است نقش حیاتی در فرآیندهای بیولوژیکی و پاتولوژیک سرطان سینه ایفا کنند. پس از مراحل مختلف آنالیز، ۳ ژن *AGR2*، *GATA3* و *KRT19* جهت پیش‌بینی پاسخ به درمان کاندید شدند و سپس *GATA3* و *KRT19* جهت بررسی تعامل دارو- ژن انتخاب شدند.

تحلیل غنی‌سازی ژن‌ها با استفاده از DAVID و Reactome نشان داد که ۷۵ ژن تغییر بیان یافته مشترک در فرایندهای بیولوژیکی مختلف مانند تمایز سلول‌های اپیتلیال و تنظیم تکثیر جمعیت سلولی نقش دارند، که می‌توانند در پاتوفیزیولوژی سرطان سینه مؤثر باشند. در مورد ژن‌های کاندید شامل *AGR2*، *GATA3* و *KRT19*، مطالعات پیشین نشان داده شده است که در فرآیندهای مهم سلولی دخیل هستند و نشانگرهای مهمی برای پیش‌بینی پیشرفت بیماری به شمار می‌آیند که هر یک نقش‌های حیاتی در عملکرد طبیعی سلول‌های اپیتلیال پستان دارند و تغییر در بیان آن‌ها می‌تواند در پاتوفیزیولوژی سرطان سینه مؤثر باشد. در ادامه به برخی از این مطالعات اشاره شده است. ژن *GATA3* یک فاکتور رونویسی کلیدی است که در تکوین و حفظ فنوتیپ سلول‌های اپیتلیال لومینال نقش دارد و در بافت پستان نرمال به تنظیم تمایز، بلوغ و ثبات سلولی کمک می‌کند. همچنین، در سرطان سینه، بیان بیش از حد *GATA3* با فنوتیپ‌های تومور لومینال مرتبط است (۲۳). *KRT19* که از کراتین‌های نوع I (از اجزای اسکلت سلولی) است، در سلول‌های اپیتلیال بیان می‌شود و در حفظ ساختار و یکپارچگی بافتی نقش دارد. این ژن در بسیاری از

تومورها از جمله سرطان سینه، به‌ویژه زیر گروه‌های مهاجم، افزایش بیان نشان می‌دهد (۲۴). مطالعه‌ی حسین‌زاده و همکاران نیز نشان داده است که *GATA3* با گیرنده آندروژن (AR) تعامل دارد و در تنظیم فنوتیپ سلول‌های اپیتلیال لومینال در سرطان سینه نقش ایفا می‌کند (۲۵). علاوه بر این، مطالعه‌ی راب (Raap) و همکاران بیان می‌کند که *GATA3* در یک زیر جمعیت خاص از سلول‌های اپیتلیال لومینال بیان می‌شود و همراه با AP-2β (TFAP2B) در فرآیندهای تمایزی این سلول‌ها نقش دارد. یافته‌های این مطالعه نشان داد که سلول‌های *GATA3* مثبت دارای بیان ویژه‌ای از CK8/18 هستند (۲۶)، که می‌تواند نشان‌دهنده عملکرد خاص آن‌ها در بافت نرمال و سرطان باشد. این مشاهدات با یافته‌های حاصل از تحلیل‌های غنی‌سازی ژن این مطالعه هم‌راستا می‌باشد، زیرا تحلیل غنی‌سازی ژن در مطالعه‌ی حاضر نیز نشان‌دهنده نقش ژن‌های تغییر بیان یافته مشترک در تمایز سلول‌های اپیتلیال بود و *GATA3* عضوی از همین شبکه ژنی است.

شبکه برهمکنش پروتئین- پروتئین (PPI) همچنین نشان داد که ژن‌های منتخب ارتباط نزدیکی با یکدیگر دارند و در شبکه‌های پروتئینی پیچیده‌ای دخیل هستند. خوشه‌های شناسایی شده در این تحلیل، نشان‌دهنده تعاملات بیولوژیکی قابل توجه بین ژن‌های کلیدی مانند *KRT19*، *AGR2* و *GATA3* بودند که پیش‌تر در مطالعات به‌عنوان عوامل مهم در سرطان سینه معرفی شده‌اند. این نتایج با پژوهش چن (Chen) و همکاران که از GEO برای شناسایی ژن‌های محوری *GATA3*، *AGR2* و *KRT19* در شبکه‌های مرتبط با مقاومت به آدریامایسین در سرطان سینه استفاده شده، همخوانی دارد (۲۷). این شواهد نشان می‌دهد که این ژن‌ها نه تنها در پیشرفت سرطان سینه، بلکه در پاسخ سلول‌های سرطانی به شیمی‌درمانی نیز نقش مهمی ایفا می‌کنند و ارتباط نزدیکی با سلول‌های بنیادی سرطان سینه دارند. نتایج حاصل از TNMplot نشان داد که بیان ژن *GATA3* در بافت توموری نسبت به بافت نرمال به‌طور معناداری افزایش یافته است. علاوه بر این، در بافت‌های متاستاتیک نیز بیان *GATA3* نسبت به بافت نرمال افزایش معناداری داشت. این یافته‌ها با مطالعه‌ی دلارا (De Lara) و همکاران همخوانی دارد، که در آن ژن

تأیید این تعاملات و بررسی مکانیسم‌های دقیق اثر آن‌ها مطالعات آزمایشگاهی مورد نیاز است.

نتیجه‌گیری

نتایج نشان می‌دهد که ژن *GATA3* نسبت به ژن *AGR2* و *KRT19* پتانسیل بالاتری به‌عنوان یک نشانگر زیستی در پیش‌بینی پاسخ به درمان دارد. افزایش بیان *KRT19* و *GATA3* با پاسخ ضعیف‌تر به درمان همراه بوده که می‌تواند بیانگر نقش آن‌ها در مقاومت به درمان باشد. یافته‌های این پژوهش می‌تواند در توسعه استراتژی‌های درمانی شخصی‌سازی‌شده و بهبود نتایج درمانی بیماران مبتلا به سرطان سینه مؤثر باشد. علاوه بر این، نتایج نشان می‌دهد که داروهای ضدسرطانی و تعدیل‌کننده‌های سیستم ایمنی نظیر پردنیزولون، دوکسوروبیسین و دگزامتازون می‌توانند به‌عنوان گزینه‌های امیدوار کننده برای کنترل فعالیت ژن‌های *GATA3* و *KRT19* در سرطان سینه عمل کرده و به بهبود پاسخ به درمان کمک کنند. پیشنهاد می‌شود در مطالعات آینده، تعامل *GATA3* و *KRT19* با سایر نشانگرهای مولکولی و مسیرهای سیگنالینگ مرتبط با مقاومت به درمان بررسی شود. همچنین، استفاده از مدل‌های پیش‌بالینی بالینی و ارزیابی آزمایشگاهی برای اعتبارسنجی این نتایج و ارزیابی تعاملات دارو-ژن می‌تواند گامی مؤثر در جهت توسعه درمان‌های هدفمند و کاهش مقاومت به درمان باشد.

سپاس و قدردانی

از معاونت پژوهشی و کمیته تحقیقات دانشجویی دانشگاه علوم پزشکی بوشهر به دلیل حمایت در انجام این مطالعه قدردانی می‌شود. همچنین، بخشی از یافته‌های این پژوهش در اولین کنگره بین‌المللی زیست‌پزشکی سرطان و سلول‌های بنیادی دانشگاه علوم پزشکی شیراز به‌صورت سخنرانی ارائه شده است.

حمایت مالی

این مطالعه تحت حمایت مالی هیچ سازمان یا مؤسسه‌ای نمی‌باشد.

تضاد منافع

هیچ گونه تعارض منافع توسط نویسندگان بیان نشده است.

GATA3 به‌عنوان یک نشانگر تشخیصی حساس برای متاستازهای سرطان سینه معرفی شده است (۲۸). این نتایج نشان می‌دهد که *GATA3* می‌تواند به‌عنوان یک نشانگر قابل اعتماد در شناسایی تغییرات اولیه سرطان سینه مورد استفاده قرار گیرد، درحالی که همچنان در مراحل متاستاتیک نیز نقش دارد. از سوی دیگر، نتایج آنالیز ROC نشان داد که *GATA3* عملکرد بهتری نسبت به *AGR2* و *KRT19* در پیش‌بینی پاسخ به درمان دارد، که این امر اهمیت آن را در انتخاب درمان‌های هدفمند برجسته می‌کند.

همچنین، تحلیل تعاملات دارو-ژن نشان داد که ژن‌های *GATA3* و *KRT19* با داروهایی مانند دوکسوروبیسین و پردنیزولون تعامل دارند. این یافته‌ها ممکن است زمینه‌ساز طراحی درمان‌های هدفمند جدید برای سرطان سینه باشد. به‌ویژه در درمان‌های ترکیبی که داروهای سرطان و داروهای تعدیل‌کننده سیستم ایمنی مورد استفاده قرار می‌گیرند. این یافته‌ها با مطالعه مانیچوتسوان (Manichotswan) و همکاران او مطابقت دارد که نشان می‌دهد گلوکوکورتیکوئیدها از طریق انتقال هسته‌ای و فسفریلاسیون *GATA3* می‌توانند بیان سایتوکاین‌های وابسته به این ژن را کاهش دهند. از آنجایی که در سرطان سینه، *GATA3* نقش مهمی در تمایز سلولی دارد، استفاده از این داروها ممکن است از طریق مسیرهای مرتبط با *GATA3* تأثیر درمانی خود را اعمال کند (۲۹). با این‌حال، مطالعات بیشتری برای بررسی اثربخشی بالینی این داروها در سرکوب فعالیت *GATA3* در سرطان سینه مورد نیاز است.

نتایج به‌دست آمده از این مطالعه نه‌تنها درک بهتری از زیست‌شناسی سرطان سینه فراهم می‌آورد، بلکه می‌تواند در طراحی روش‌های تشخیص و درمان جدید برای این بیماری کمک کند. ژن‌های شناسایی‌شده ممکن است علاوه بر استفاده به‌عنوان اهداف درمانی به‌عنوان بیومارکرهای جدید در درمان سرطان سینه مطرح شوند و دقت پیش‌بینی پاسخ به درمان را افزایش دهند. اگرچه این مطالعه دارای محدودیت‌هایی نیز می‌باشد. محدودیت اصلی در این مطالعه رویکرد کاملاً محاسباتی و *In Silico* آن می‌باشد. لذا برای تأیید این اهداف درمانی یا بیومارکرهای پیش‌آگهی‌دهنده و همچنین برای

References:

- Hajigholami S, Vaise Malekshahi Z. Nano Packaged Diblock and Curcumin: a New Approach Inorder To Drug Resistance in Breast Cancer. *Iran South Med J* 2017; 19(6): 951–61. <https://ismj.bpums.ac.ir/article-1-843-fa.html>
- Bray F, Laversanne M, Sung H, et al. Global cancer statistics 2022: GLOBOCAN estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries. *CA Cancer J Clin* 2024; 74(3): 229-63. [10.3322/caac.21834](https://doi.org/10.3322/caac.21834)
- Pont M, Marqués M, Sorolla A. Latest therapeutical approaches for triple-negative breast cancer: From pre-clinical to clinical research. *Int J Mol Sci* 2024; 25(24): 13518. [10.3390/ijms252413518](https://doi.org/10.3390/ijms252413518)
- Manoochehri H, Farrokhnia M, Sheykhasan M, et al. Key target genes related to anti-breast cancer activity of ATRA: A network pharmacology, molecular docking and experimental investigation. *Heliyon* 2024; 10(14): e34300. [10.1016/j.heliyon.2024.e34300](https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2024.e34300)
- Manoochehri H, Asadi S, Tanzadehpanah H, et al. CDC25A is strongly associated with colorectal cancer stem cells and poor clinical outcome of patients. *Gene Reports* 2021; 25: 101415. [10.1016/j.genrep.2021.101415](https://doi.org/10.1016/j.genrep.2021.101415)
- Wang L, Jin Z, Master RP, et al. Breast Cancer Stem Cells: Signaling Pathways, Cellular Interactions, and Therapeutic Implications. *Cancers (Basel)* 2022; 14(13): 3287. [10.3390/cancers14133287](https://doi.org/10.3390/cancers14133287)
- Palomerias S, Ruiz-Martínez S, Puig T. Targeting Breast Cancer Stem Cells to Overcome Treatment Resistance. *Molecules*. 2018; 23(9): 2193. [10.3390/molecules23092193](https://doi.org/10.3390/molecules23092193)
- Hillebrand LE, Reinheckel T. Impact of proteolysis on cancer stem cell functions. *Biochimie* 2019; 166: 214-22. [10.1016/j.biochi.2019.03.002](https://doi.org/10.1016/j.biochi.2019.03.002)
- Chen J, Chen S, Zhuo L, et al. Regulation of cancer stem cell properties, angiogenesis, and vasculogenic mimicry by miR-450a-5p/SOX2 axis in colorectal cancer. *Cell Death Dis* 2020; 11(3): 173. [10.1038/s41419-020-2361-z](https://doi.org/10.1038/s41419-020-2361-z)
- Manoochehri H, Sheykhasan M, Samadi P, et al. System biological and experimental validation of miRNAs target genes involved in colorectal cancer radiation response. *Gene Reports* 2019; 17: 100540. [10.1016/j.genrep.2019.100540](https://doi.org/10.1016/j.genrep.2019.100540)
- Manoochehri H, Jalali A, Tanzadehpanah H, et al. Identification of key Gene Targets for Sensitizing Colorectal Cancer to Chemoradiation: an Integrative Network Analysis on Multiple Transcriptomics Data. *J Gastrointest Cancer* 2022; 53(3): 649-68. [10.1007/s12029-021-00690-2](https://doi.org/10.1007/s12029-021-00690-2)
- Çorbacıoğlu Ş K, Aksel G. Receiver operating characteristic curve analysis in diagnostic accuracy studies: A guide to interpreting the area under the curve value. *Turk J Emerg Med* 2023; 23(4): 195-8. [10.4103/tjem.tjem_182_23](https://doi.org/10.4103/tjem.tjem_182_23)
- Puckett Y, Patel P, Bokhari AA. Prednisone. In: *StatPearls* [Internet]. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing; 2025. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK534809/>.
- Thorn CF, Oshiro C, Marsh S, Hernandez-Boussard T, et al. Doxorubicin pathways: Pharmacodynamics and adverse effects. *Pharmacogenet Genomics*. 2011; 21(7): 440-6. [10.1097/FPC.0b013e32833ffb56](https://doi.org/10.1097/FPC.0b013e32833ffb56)
- Sharma H, Wadhwa R. Mercaptopurine. In: *StatPearls* [Internet]. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing; 2025. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK557620/>
- Johnson DB, Lopez MJ, Kelley B. Dexamethasone. In: *StatPearls* [Internet]. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing; 2025. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK482130/>
- Hanoodi M, Mittal M. Methotrexate. In: *StatPearls* [Internet]. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing; 2025: 32310574. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK556114/>
- Nousari HC, Sragovich A, Kimyai-Asadi A, et al. Mycophenolate mofetil in autoimmune and inflammatory skin disorders. *J Am Acad Dermatol* 1999; 40(2): 265-8. [10.1016/s0190-9622\(99\)70203-3](https://doi.org/10.1016/s0190-9622(99)70203-3)
- Awosika AO, Below J, Das JM. Vincristine. In: *StatPearls* [Internet]. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing; 2025. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK537122/>
- Faruqi A, Tadi P. Cytarabine. In: *StatPearls* [Internet]. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing; 2025. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK557680/>
- Hegde VS, Nagalli S. Leucovorin. In: *StatPearls* [Internet]. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing; 2024. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK553114/>
- Fassas A, Anagnostopoulos A. The use of liposomal daunorubicin (DaunoXome) in acute myeloid leukemia. *Leuk Lymphoma* 2005; 46(6): 795-802. [10.1080/10428190500052438](https://doi.org/10.1080/10428190500052438)
- Voduc D, Cheang M, Nielsen T. GATA-3 expression in breast cancer has a strong association with estrogen receptor but lacks independent prognostic value.

- Cancer Epidemiol Biomarkers Prev 2008; 17(2): 365-73. [10.1158/1055-9965.Epi-06-1090](https://doi.org/10.1158/1055-9965.Epi-06-1090)
24. Sharma P, Alsharif S, Bursch K, et al. Keratin 19 regulates cell cycle pathway and sensitivity of breast cancer cells to CDK inhibitors. Sci Rep. 2019; 9(1): 14650. [10.1038/s41598-019-51195-9](https://doi.org/10.1038/s41598-019-51195-9)
25. Hosseinzadeh L, Kikhtyak Z, Laven-Law G, et al. The androgen receptor interacts with GATA3 to transcriptionally regulate a luminal epithelial cell phenotype in breast cancer. Genome Biol 2024; 25(1): 44. [10.1186/s13059-023-03161-y](https://doi.org/10.1186/s13059-023-03161-y)
26. Raap M, Gierendt L, Werlein C, et al. Co-expression of transcription factor AP-2beta (TFAP2B) and GATA3 in human mammary epithelial cells with intense, apicobasal immunoreactivity for CK8/18. J Mol Histol. 2021; 52(6): 1257-64. [10.1007/s10735-021-09980-2](https://doi.org/10.1007/s10735-021-09980-2)
27. Chen Y, Lin Y, Cui Z. Identification of adriamycin resistance genes in breast cancer based on microarray data analysis. Transl Cancer Res 2020; 9(12): 7486-94. [10.21037/tcr-19-2145](https://doi.org/10.21037/tcr-19-2145)
28. De Lara S, Parris TZ, Werner Rönnerman E, et al. GATA3 as a putative marker of breast cancer metastasis-A retrospective immunohistochemical study. Breast J 2018; 24(2): 184-8. [10.1111/tbj.12863](https://doi.org/10.1111/tbj.12863)
29. Maneechotesuwan K, Yao X, Ito K, et al. Suppression of GATA-3 nuclear import and phosphorylation: a novel mechanism of corticosteroid action in allergic disease. PLoS Med 2009; 6(5): e1000076. [10.1371/journal.pmed.1000076](https://doi.org/10.1371/journal.pmed.1000076).