



Mouse Mammary Tumor Virus as a Risk Factor for Breast Cancer

Hassan Vahidi Emami^{1✉} , Arash Ghalyanchi Langeroudi^{2✉} , Seyed Masoud Hosseini^{3✉} ,

Hamideh Najafi^{2✉}

¹ Graduated from the Faculty of the Veterinary Medicine, University of Tehran, Tehran, Iran

² Department of Microbiology and Immunology, Faculty of the Veterinary Medicine, University of Tehran, Tehran, Iran

³ Department of Microbiology and Microbial Biotechnology, Faculty of Life Sciences and Biotechnology, Shahid Beheshti University, Tehran, Iran

Received: 13 Jan 2025, Reciver in revised from: 11 Mar 2025, Accepted: 16 Mar 2025, Available online: 10 Jun 2025

[10.22059/jvr.2024.372152.3418](https://doi.org/10.22059/jvr.2024.372152.3418)

J Vet Res, Volume 80, Number 2, 2025, 111-119

Abstract

BACKGROUND: Breast cancer is one of the most common cancers in the world, particularly among Iranian women. Although its mortality rate has decreased in developed countries, breast cancer incidence has increased. Accumulating evidence has indicated that viral infections could be significantly implicated in the pathogenesis of breast cancer.

OBJECTIVES: The current study is a molecular investigation of the correlation between mouse mammary tumor virus (MMTV) infection and breast cancer in Iran.

METHODS: In the cross-sectional study, 85 breast cancer tissue samples and 85 adjacent tumor samples (normal tissue) were collected from women referred to general hospitals in 2022. The nested-PCR technique was performed to determine the presence of the *env* gene of MMTV in the collected samples. To confirm the presence of the *env* gene of MMTV, PCR products of some MMTV-positive samples were subjected to direct sequencing.

RESULTS: Based on the nested-PCR technique, the *env* gene of MMTV was detected in 18.8% (18/85) and 2.85% (2/85) of breast cancer tissues and control samples, respectively. Most malignant tumor samples infected with MMTV were grade III. The constructed phylogenetic trees for the *env* gene of MMTV showed all isolates belonged to the human breast tumor virus clade.

CONCLUSIONS: The results of the current study, using a nested-PCR technique, demonstrate a possible relationship between human breast cancer and MMTV infection in women of Iran. MMTV is one of the major risk factors for breast cancer.

Keywords: *env* gene, Breast cancer, Nested-PCR technique, Mouse mammary tumor virus (MMTV), Retrovirus

Copyright © The Author(s).

Publisher: University of Tehran

Conflict of interest: The authors declared no conflict of interest.

Corresponding author: Arash Ghalyanchi Langeroudi, Tel/Fax: +9821-61117154 / +9821-66907772



How to cite this article:

Vahidi Emami H, Ghalyanchi Langeroudi A, Hosseini SM, Najafi H. Mouse Mammary Tumor Virus as a Risk Factor for Breast Cancer. J Vet Res, 2025; 80(2): 111-119. doi: 10.22059/jvr.2024.372152.3418

Figure Legends and Table Captions

Table 1. Sequence of Primers Used.

Table 2. MMTV Virus Distribution in Breast Cancer Tissue Samples.

Figure 1. Amplification of the *env* Gene in Some Samples. Column LM: DNA ladder (100 bp), column 1: positive control (160 bp), columns 2 and 3: positive samples (160 bp).

Figure 2. Phylogeny Tree Related to the *env* Gene in the Identified Isolates.



ویروس تومور پستان موش (*Mouse mammary tumor virus*) به عنوان فاکتور خطر در سرطان سینه

حسن وحیدی امامی^۱، آرش قلیانچی لنگرودی^۲، سیدمسعود حسینی^۳، حمیده نجفی^۲

^۱ دانش‌آموخته دانشکده دامپزشکی، دانشگاه تهران، تهران، ایران

^۲ گروه میکروبیولوژی و ایمنی‌شناسی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه تهران، تهران، ایران

^۳ گروه میکروبیولوژی و زیست‌فناوری میکروبی، دانشکده علوم و فناوری زیستی، دانشگاه شهید بهشتی، تهران، ایران

تاریخ دریافت: ۲۴ دی ۱۴۰۳، تاریخ بازنگری: ۲۱ اسفند ۱۴۰۳، تاریخ پذیرش: ۲۶ اسفند ۱۴۰۳، تاریخ انتشار: ۲۰ خرداد ۱۴۰۴

doi: 10.22059/jvr.2024.372152.3418

دوره ۸۰، شماره ۲، ۱۴۰۴، ۱۱۱-۱۱۹

چکیده

زمینه مطالعه: سرطان سینه (BC: Breast cancer) یکی از رایج‌ترین سرطان‌ها در سراسر جهان به‌ویژه زنان ایرانی است. میزان مرگ‌ومیر در کشورهای توسعه‌یافته کاهش یافته است، اما تغییرات افزایش‌یافته‌ای در شیوع سرطان سینه وجود دارد. شواهد نشان داده است که عفونت‌های ویروسی می‌توانند به‌طور قابل توجهی در بیماری‌زایی BC نقش داشته باشند.

هدف: مطالعه حاضر با هدف بررسی مولکولی رابطه بین عفونت ویروس *MMTV* (*Mouse mammary tumor virus*) و سرطان سینه در ایران انجام شد. **روش کار:** در مجموع ۸۵ نمونه بافت سرطانی سینه و ۸۵ بافت مجاور بافت سرطانی (بافت سالم) طی سال ۱۴۰۱ از زنان مراجعه‌کننده به بخش ویژه سرطان جمع‌آوری شد. روش nested-PCR به‌منظور تعیین حضور ژن env ویروس *MMTV* در نمونه‌های جمع‌آوری‌شده، انجام شد. به‌منظور تأیید حضور ژن env ویروس *MMTV*، محصولات PCR برخی از نمونه‌های آلوده به ویروس *MMTV* تعیین توالی شدند.

نتایج: براساس روش nested-PCR، ژن env ویروس *MMTV* به‌ترتیب در ۱۸/۸ درصد (۱۸ نمونه) و ۲/۸۵ درصد (۲ نمونه) از ۸۵ نمونه بافت سرطانی سینه و نمونه‌های کنترل شناسایی شدند. اکثر نمونه‌های تومور بدخیم آلوده به ویروس *MMTV* در مرحله III بودند. نتایج درخت فیلوژنی برای ژن env ویروس *MMTV* نشان داد که تمام جدایه‌ها در clade ویروس تومور سینه انسانی (*HMTV*) قرار دارند.

نتیجه‌گیری نهایی: نتایج مطالعه حاضر با استفاده از روش nested-PCR احتمال رابطه‌ای بین سرطان سینه در انسان و عفونت ویروس تومورزای پستان موش را در ایران اثبات کرد. ویروس *MMTV* یکی از فاکتورهای اصلی خطر برای سرطان سینه می‌باشد.

کلمات کلیدی: رتروویروس، روش Nested-PCR، ژن env، سرطان سینه، ویروس تومورزای پستان موش (*MMTV*)

ناشر: مؤسسه انتشارات دانشگاه تهران.

کپی‌رایت © نویسندگان.



نویسنده مسئول: آرش قلیانچی لنگرودی، گروه میکروبیولوژی و ایمنی‌شناسی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه تهران، تهران، ایران

مقدمه

سرطان نتیجه خروج سلول‌ها از مسیرهای درست تنظیمی، تکثیری و تمایزی است. خودکارآمدی در سیگنال‌های رشد، غیرحساس شدن به سیگنال‌های مهارکننده رشد، اجتناب از مرگ سلولی برنامه‌ریزی‌شده، پتانسیل نامحدود تکثیر، حفظ رگ‌زایی، تهاجم بافتی و متاستاز به بدخیم شدن سرطان منجر می‌شوند (۱).

سرطان سینه یک بیماری چندمرحله‌ای می‌باشد. میزان مرگ‌ومیر سرطان سینه در زنان ایرانی ۴/۳۳ در هر ۱۰۰۰۰۰ نفر است که نسبت به انواع دیگر سرطان بیشتر است. عوامل مهم و تعیین‌کننده سرطان سینه شامل سن، سابقه سرطان سینه در فرد، سابقه خانوادگی مثبت و تغییرات ژنتیکی خاص می‌باشد. سابقه قاعدگی و بارداری، هورمون‌ها نظیر استروژن، نژاد، نداشتن تحرک بدنی، نوشیدن الکل و تراکم سینه از عوامل تأثیرگذار می‌باشند (۲). همچنین فاکتورهای محیطی که فاکتورهای خارجی نامیده می‌شوند، شامل عوامل فیزیکی

یا تشعشعات (مثل اشعه UV و اشعه X)، عوامل شیمیایی (مثل موتازن‌ها و کارسینوژن‌ها) و عوامل عفونی (مثل باکتری‌ها و ویروس‌ها) دخیل می‌باشند (۳). ویروس‌ها در حال حاضر به‌عنوان فاکتورهای علت‌شناسانه سرطان انسانی پذیرفته شده‌اند. تخمین زده می‌شود که ۱۵ درصد از تومورهای انسانی در سراسر جهان توسط ویروس‌ها ایجاد می‌شود (۴).

ویروس‌های انکوژنیک از جمله ویروس‌های هپاتیت B و C (Hepatitis B and C viruses)، ویروس اپشتاین بار (Epstein-Barr virus (EBV)، ویروس لوکمایی انسانی نوع ۱ و ۲ (Human T-cell leukemia virus type 1 and 2)، هرپس ویروس انسانی ۸ (Human herpes virus 8) و پاپیلوماویروس (Human papillomavirus (HPV)) در انواع سرطان‌ها دخیل می‌باشند (۲، ۵). مطالعات اپیدمیولوژیک گزارش کردند که ویروس تومورزای پستان موش (Mouse mammary tumor virus (MMTV)) در انسان بیماری‌زا است که ارتباط نزدیکی با HERVs دارد (۶، ۷).

رتروویروس‌های سرطان‌زا با ادغام پروویروس در ژنوم میزبان باعث افزایش بیان انکوژن‌های سلولی می‌شوند و مدت زیادی است که برای مطالعه ایجاد و پیشرفت تومور در مدل‌های حیوانی مورد استفاده قرار می‌گیرند (۸) و به دنبال آن بسیاری از انکوژن‌های سلولی به دلیل ارتباط آن‌ها با تومورهای ناشی از این نوع رتروویروس شناسایی شدند. در طی مطالعات انجام‌شده ویروس تومور پستان موش باعث ایجاد تومورهای سلول‌های اپیتلیال پستانی می‌شود. MMTV برای اولین بار در دهه ۱۹۳۰ به‌عنوان یک عامل انتقال‌دهنده شیر در ارتباط با تومورهای پستانی در موش شناخته شد و برای مدت طولانی به‌عنوان یک مدل *in-vivo* برای مطالعه سرطان سینه انسان مورد استفاده قرار گرفت (۹).

ویروس MMTV در ابتدا به‌عنوان یک رتروویروس ساده طبقه‌بندی می‌شد. ژنوم رتروویروس‌های ساده از گلیکوپروتئین‌های مرتبط با گروه Gag، آنزیم‌های موردنیاز برای تکثیر ژنوم (ترانس کریپتاز، معکوس و اینتگراز؛ Pol/In) و پروتئین‌های انولوپ (Env) تشکیل شده است. در مقابل، ژنوم رتروویروس‌های پیچیده، مانند لنتی ویروس‌ها و دلتا ویروس‌ها، پروتئین‌های غیرساختاری را رمزگذاری می‌کنند که تکثیر ویروس در سلول میزبان را تسهیل می‌کنند یا در برابر پاسخ‌های ایمنی ذاتی یا در طی عفونت *in-vivo* مقابله می‌کنند. ژنوم ویروس MMTV حداقل سه پروتئین کمکی شناخته‌شده را رمزگذاری می‌کند که به‌عنوان یک رتروویروس پیچیده در نظر گرفته می‌شود. طول ژنوم آن ۹ کیلوباز است و مانند همه رتروویروس‌ها دارای توالی با تکرارهای پایانی ۵' و ۳' (LTR: Long terminal repeat) است که در مورد MMTV بسیار طولانی می‌باشند (تقریباً ۱/۳ کیلوباز) و در کنار آن قرار دارد. LTR 3' ویروس یکی از پروتئین‌های جانبی که تحت عنوان سوپرانتی ژن (Sag) نامیده می‌شود را کد می‌کند. همچنین علاوه بر ناحیه کدکننده Sag، دارای محل‌هایی جهت اتصال به فاکتور رونویسی در ناحیه LTR می‌باشد (۱۰).

سرطان سینه ناشی از ویروس MMTV با ادغام کامل یا بخشی از ژنوم خود با استفاده از توالی انتهایی LTR خود در ژنوم میزبان و ایجاد پروویروس به فعال‌سازی انکوژن‌های سلولی منجر می‌شود (۱۱). علاوه بر این، پروتئین ناحیه Env در تومورزایی سینه نقش مهمی را ایفا می‌کند. Env ویروس دارای یک موتیف فعال‌سازی مبتنی بر ایمنی تیروزین (ITAM) است که معمولاً در گیرنده‌های بیان‌شده در سلول‌های خون‌ساز یافت می‌شود. بیان پروتئین Env در سلول‌های اپیتلیال پستان طبیعی موش یا انسان باعث ایجاد دگرگونی مورفولوژیکی در کشت سلولی می‌شود (۱۲).

از آنجاکه سیر بالینی سرطان اولیه سینه در هر بیمار متفاوت با سایر مبتلایان است، تعیین سرنوشت نهایی هر بیمار مشخص نیست و شناخت عواملی که بتوانند به‌طور مستقیم یا غیرمستقیم، سرنوشت نهایی بیماران را پیش‌بینی کنند، در تصمیم‌گیری بالینی و انتخاب درمان مفید می‌باشد. مطالعات دو دهه اخیر نشان دادند مکانیسم‌های مختلفی در شروع و پیشرفت سرطان سینه در سطح بافتی نقش دارند. مطالعه حاضر با هدف ردیابی پروویروس MMTV در نمونه‌های بافت سینه در افراد دارای سرطان سینه با استفاده از روش nested-PCR (بررسی وجود ژن env ویروس) انجام شد. روش nested-PCR روشی سریع و حساس می‌باشد که برای طیف گسترده‌ای از ارگانسیم‌های مختلف با ویژگی بسیار بالا طراحی می‌شود (۱۳).

مواد و روش کار

جمع‌آوری نمونه: در مطالعه مقطعی حاضر، در مجموع ۸۵ نمونه بافت سرطانی سینه و ۸۵ نمونه از بافت حاشیه اطمینان (نمونه‌های سالم) طی سال‌های ۱۴۰۰-۱۴۰۱ از زنان مراجعه‌کننده به بخش ویژه سرطان بیمارستان‌های عمومی استان قم جمع‌آوری شد. نمونه‌های

بافت سینه فیکس شده در فرمالین بودند و از زنان ۳۳-۷۱ سال تحت جراحی برای ماستکتومی به دست آمدند. از بافت مجاور بافت سرطانی به عنوان کنترل، نمونه گرفته شد.

آماده سازی نمونه های بافت: جهت آماده سازی نمونه های بافت فرمالینه قبل از استخراج ژنوم، طبق پروتکل کیت فاورپ (FavorPrepTM، ساخت تایلند)، ۲۵ میلی گرم نمونه در تیوب های ۲ میلی لیتر قرار داده شد و به منظور حذف فرمالین از نمونه ها ۱ میلی لیتر بافر PBS به هر تیوب اضافه گشت. سپس نمونه ها توسط pestle یک بار مصرف و استریل تحت نیتروژن مایع خرد شد.

واکنش PCR: پرایمرهای مورد استفاده جهت شناسایی ویروس MMTV براساس ژن env با استفاده از نرم افزار CLC Sequence Viewer 6 طراحی شدند و بررسی آن ها به لحاظ ترمودینامیکی به کمک نرم افزار Gene runner انجام گردید (جدول ۱). به منظور اطمینان از صحت توالی های انتخاب شده و عدم اتصال پرایمرها به توالی های غیر اختصاصی ژنوم، BLAST انجام شد. سپس این توالی ها توسط شرکت پیشگام (ایران) سنتز شدند.

تمام مراحل واکنش PCR در زیر هود بیولوژیک کلاس II انجام شد. کیت فاورپ (FavorPrepTM، ساخت تایلند) به منظور استخراج ژنوم مورد استفاده قرار گرفت. جهت تأیید استخراج DNA از نمونه های انسانی از تکثیر ژن GAPDH انسانی به عنوان کنترل داخلی استفاده شد. برای اطمینان از آلوده نبودن مخلوط واکنش تکثیری، از سرم خون انسان فاقد ویروس MMTV به عنوان کنترل منفی استفاده گردید. نمونه کنترل مثبت توالی سنتز شده قطعه ۴۰۰ جفت بازی در باکس ژنی ژن env ویروس تهیه شد. واکنش nested-PCR برای ژن env همراه با کنترل منفی با برنامه حرارتی در دور اول واکنش، شامل دناتوراسیون اولیه در دمای ۹۴ درجه سانتی گراد (۵ دقیقه، یک سیکل)، دناتوراسیون ثانویه در دمای ۹۴ درجه سانتی گراد (۱ دقیقه، ۴۰ سیکل)، اتصال پرایمرها در دمای ۵۳ درجه سانتی گراد (۳۰ ثانیه، ۴۰ سیکل)، تکثیر در دمای ۷۲ درجه سانتی گراد (۳۰ ثانیه، ۴۰ سیکل) و تکثیر نهایی در دمای ۷۲ درجه سانتی گراد (۵ دقیقه، ۱ سیکل) انجام شد. دور دوم واکنش شامل دناتوراسیون اولیه در دمای ۹۴ درجه سانتی گراد (۵ دقیقه، ۱ سیکل)، دناتوراسیون ثانویه در دمای ۹۴ درجه سانتی گراد (۱ دقیقه، ۴۰ سیکل)، اتصال پرایمرها در دمای ۵۵ درجه سانتی گراد (۳۰ ثانیه، ۴۰ سیکل)، تکثیر در دمای ۷۲ درجه سانتی گراد (۴۵ ثانیه، ۴۰ سیکل) و تکثیر نهایی در دمای ۷۲ درجه سانتی گراد (۵ دقیقه، ۱ سیکل) صورت گرفت. واکنش PCR برای ژن GAPDH نیز شامل دناتوراسیون اولیه در دمای ۹۴ درجه سانتی گراد (۵ دقیقه، ۱ سیکل)، دناتوراسیون ثانویه در دمای ۹۴ درجه سانتی گراد (۳۰ ثانیه، ۳۰ سیکل)، اتصال پرایمرها در دمای ۵۸ درجه سانتی گراد (۳۰ ثانیه، ۳۰ سیکل)، تکثیر در دمای ۷۲ درجه سانتی گراد (۴۰ ثانیه، ۳۰ سیکل) و تکثیر نهایی در دمای ۷۲ درجه سانتی گراد (۵ دقیقه، ۱ سیکل) انجام شد. در نهایت، محصول PCR روی ژل آگارز ۱ درصد الکتروفورز و پس از رنگ آمیزی با Safe Stain (شرکت سیناکلون، ایران)، در دستگاه ژل داک بررسی گردید.

جدول ۱. توالی پرایمرهای مورد استفاده.

اندازه محصول	توالی پرایمر	ژن
۱۶۰ جفت باز	پرایمر خارجی Forward: 5'- TTCCTTCTCCTTTTCTACCCC-3' Reverse: 3'- GCAGATATGCCAGGATAATG-5'	env
	پرایمر داخلی Forward: 5'- TCCTCACTGCCAGATCGCCT-3' Reverse: 3'- CTAGGCGAGGGAAGGGAGAA-5'	
۱۲۰ جفت باز	Forward: 5'- CCACTCCTCCACCTTTGACG-3' Reverse: 3'- CCACCACCTGTTGCTGTAG-5'	GAPDH

جدول ۲. توزیع ویروس MMTV در نمونه های بافت سرطان سینه.

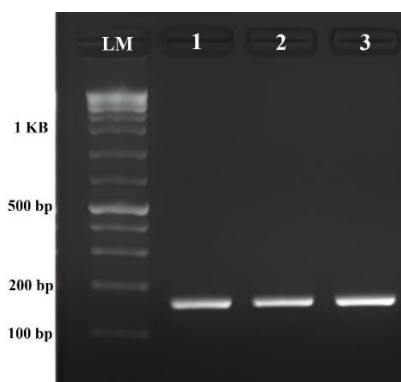
نوع نمونه	تعداد env ⁺ (درصد)
نمونه های بافت سرطانی	۱۸ (۲۱/۱)
نمونه های بافت کنترل	۲ (۲/۳۵)
بافت درجه هیستولوژی I	۰
بافت درجه هیستولوژی II	۵ (۲۷/۷)
بافت درجه هیستولوژی III	۱۱ (۶۱/۱)
بافت TNBC	۲ (۱۱/۱)

آنالیز سکانس: تعدادی از نمونه‌های مثبت *MMTV* به‌دست‌آمده به‌طور تصادفی انتخاب شدند و به شرکت پیشگام (ایران) به‌منظور تعیین توالی فرستاده شدند و سپس با کمک نرم‌افزار MEGA-X version 10 درختچه فیلوژنی رسم شد. **آنالیز آماری:** اطلاعات به‌دست‌آمده توسط نرم‌افزارهای SPSS نسخه ۲۲ و آزمون *t* آنالیز شد. اختلاف کمتر از $P < 0.05$ معنی‌دار قلمداد گردید.

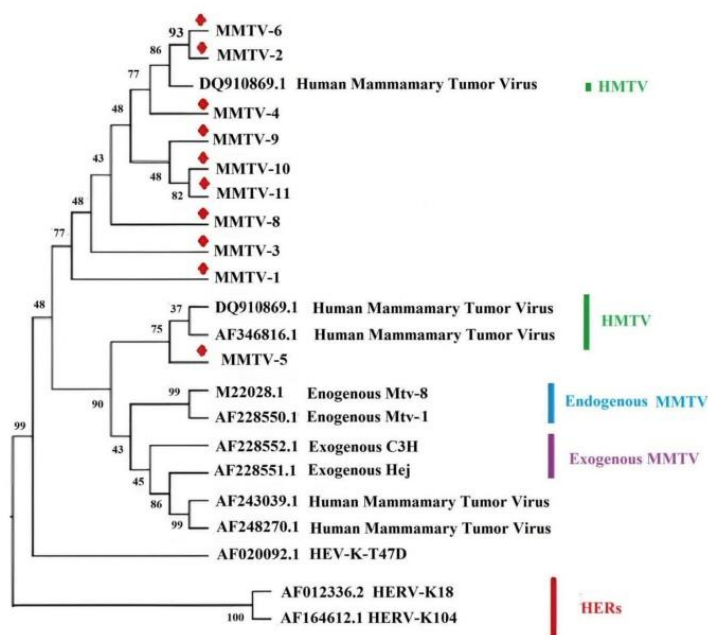
نتایج

مشخصات نمونه‌های جمع‌آوری‌شده: درمجموع ۸۵ نمونه بافت سرطان سینه و ۸۵ نمونه از بافت حاشیه اطمینان (نمونه‌های سالم) از زنان تحت جراحی جمع‌آوری شد. توزیع تومورها از لحاظ پاتولوژی بدین صورت بود: ۷۸ نمونه کارسینوما تهاجمی داکتال، ۶ نمونه کارسینوما لوبولار و ۱ نمونه آدنوکارسینوما.

نتایج Nested-PCR و PCR: فراوانی ویروس *MMTV* براساس ژن *env* در بین ۸۵ نمونه بافت سرطان سینه و کنترل به‌ترتیب ۱۸ نمونه (۲۱/۱ درصد) و ۲ نمونه (۲/۳۵ درصد) ($P < 0.05$) بود (جدول ۲). اکثر نمونه‌های بافت بدخیم آلوده به ویروس *MMTV* دارای درجه هیستولوژی II/III بودند. نتایج تکثیر ژن *env* ویروس *MMTV* در تصویر ۱ نشان داده شده است.



تصویر ۱. تکثیر ژن *env* در برخی از نمونه‌ها. ستون LM: DNA Ladder (۱۰۰ جفت باز)، ستون ۱: کنترل مثبت (۱۶۰ جفت باز)، ستون‌های ۲ و ۳: نمونه مثبت (۱۶۰ جفت باز).



تصویر ۲. درخت فیلوژنی مربوط به ژن *env* در جدایه‌های شناسایی‌شده همراه با توالی ژن‌های مربوط به توالی *MMTV* های اگزوژن، اندوژن، ویروس توموری سینه انسان (HMTV) و HERVs.

درخت فیلوژنی مربوط به آن با کمک نرم افزار MEGA-X version 10 ترسیم شد. توالی های توافقی ژن env برخی از نمونه های جداسازی شده از استان قم در GenBank با شماره دسترسی PP097745-PP097735 ثبت شد. جهت بررسی توالی MMTV های به دست آمده دو توالی ویروس تومورزایی اندوژن MMTV-8 و MMTV-1 با شماره دسترسی M22028 و AF22550، دو توالی ویروس اگزوژن، شامل C3H و Hej با شماره دسترسی AF228552 و AF228551، سه توالی ویروس تومور سینه انسانی (HMTV) با شماره دسترسی های AF346816، DQ910869 و AY152722 در برنامه MEGA X.10 با استفاده از Clustal W ردیف خوانی و پیرایش گردید. توالی های همولوگ از خانواده رتروویروس های درون زای انسانی مرتبط با HERV-K به عنوان کنترل خارج گروه با شماره دسترسی های AF01262 و AF164612 استفاده شد. نتایج درختچه فیلوژنیک براساس توالی ژن env نشان داد تمام جدایه ها در clade ویروس تومور سینه انسانی (HMTV) قرار دارند (تصویر ۲).

بحث

سرطان سینه یکی از شایع ترین انواع سرطان است که هر ساله باعث مرگ و میر فراوانی در بین زنان و مردان می شود و علی رغم پیشرفت های بسیاری که در مورد تشخیص زودهنگام و درمان مناسب این بیماری صورت گرفته است، کماکان مهم ترین سرطان کُشنده در بین زنان محسوب می شود (۱۴). براساس مطالعات انجام شده در سال های اخیر، سرطان سینه فراوان ترین نوع سرطان در میان زنان ایران (سومین سرطان شایع) به شمار می آید (۱۵). برخلاف کشورهای غربی به نظر می رسد سن شایع آن بین ۳۵-۴۴ سالگی باشد. این بدخیمی، ۳۳ درصد سرطان های زنان را تشکیل داده و مسئول ۱۹ درصد از مرگ های وابسته به سرطان است (۱۶). بسیاری از مطالعات، رابطه ای احتمالی بین وجود عفونت ویروسی و پاتوژنز سرطان سینه را نشان داده اند که از جمله این ویروس ها، می توان به ویروس MMTV اشاره کرد. مطالعات متعددی از قسمت های مختلف دنیا حاکی از وجود ژنوم این ویروس ها در بافت سرطانی سینه است. بدین ترتیب در مطالعه حاضر به بررسی ارتباط بین پروویروس MMTV در نمونه های بافت سینه در افراد دارای سرطان با استفاده از روش nested-PCR (بررسی وجود ژن env) پرداخته شد. تکنیک nested-PCR دارای حساسیت و ویژگی بالاتری نسبت به تست های سرولوژی است، زیرا این توانایی را دارد که تعداد بار ویروسی کم را شناسایی کند. درواقع، این روش حضور ویروس MMTV را در سلول های اپیتلیال بافت سینه انسان تأیید کرد (۱۷).

برخی از مطالعات نشان داده اند یک ویروس مشابه MMTV، یعنی ویروس شبه MMTV، که به عنوان ویروس تومور سینه انسانی (HMTV) نیز شناخته می شود، ممکن است یک عامل خطر برای BC انسان باشد (۱۸). چندین مطالعه وجود توالی ژن env شبه MMTV را با شیوع در محدوده صفر تا ۷۴ درصد موارد BC در چندین کشور نشان داده اند. در ژاپن، اتریش و بریتانیا شیوعی دیده نشد (۱۹، ۲۰). فراوانی MMTV DNA براساس ژن env در زنان مبتلا به BC، ۱۸ از ۸۵ نمونه (۱۸/۸ درصد) بود. سایر مطالعات از جمله در ایالات متحده آمریکا، پاکستان، ایران، آرژانتین، ایتالیا، تونس، مراکش، عربستان سعودی، کره، عراق، چین و استرالیا شیوع MMTV را به ترتیب ۳۸/۵-۳۰ درصد (۲۴-۲۱)، ۲۰ درصد (۲۵)، ۳۲/۲ درصد (۲۶)، ۳۱ درصد (۲۷)، ۳۳ درصد (۲۸)، ۱۴ درصد (۲۹)، ۵۷ درصد (۳۰)، ۵/۹ درصد (۳۱)، ۹/۴ درصد (۳۲)، ۱۸/۱۸ درصد (۳۳)، ۱۷/۶۵ درصد (۳۴) و ۷۸-۳۶ درصد (۳۵-۳۷) گزارش نمودند. همه این نتایج شواهدی است مبنی بر اینکه تشخیص ژن env متغیر است و درواقع در اکثر کشورهای جهان گسترده است.

ژن env MMTV در ۲ نمونه از ۸۵ نمونه (۲/۸۵ درصد) از بافت های کنترل سینه یافت شد. این فراوانی بالا برخلاف مطالعه Wang و همکاران در سال ۱۹۹۵، Pogo و همکاران در سال ۲۰۱۰ و Melana و همکاران در ایالات متحده در سال ۲۰۰۱، ۱-۱/۸ درصد بود (۲۱، ۲۲، ۲۴). در صورتی که Ahangar و همکاران در سال ۲۰۱۴ (ایران، تبریز) (۱۵)، Seo و همکاران در سال ۲۰۱۹ (کره) (۳۲)، Al-Dossary و همکاران در سال ۲۰۱۸ (عربستان سعودی) (۳۱)، Lawson و همکاران در سال ۲۰۱۸ (استرالیا) (۳۸) و Hachana و همکاران در سال ۲۰۰۸ (تونس) (۲۹)، Etkind و همکاران در سال ۲۰۰۰ (ایالات متحده آمریکا) (۲۳) و Zammarchi و همکاران در سال ۲۰۰۶ (ایتالیا) (۲۸) توالی MMTV را در بافت سالم سینه انسان تشخیص ندادند. از سوی دیگر، Shariatpanahi و همکاران در ایران در سال ۲۰۱۷ (۵ درصد) (۲۶)، Melana و همکاران در آرژانتین در سال ۲۰۰۲ (۱۰ درصد) (۲۷) و Glenn و همکاران در استرالیا در سال ۲۰۱۲ (۳۳ درصد) (۳۷) و Wang و همکاران در چین در سال ۲۰۲۱ (۴ درصد) (۳۴) و Slaoui و همکاران در مراکش در سال ۲۰۱۴ (۳۳ درصد) (۳۰) درصد بالایی را در مقایسه با نتایج مطالعه حاضر گزارش کردند. تفاوت های زیادی در نتایج وجود دارد که به

تعداد نمونه‌ها، روش شناسایی، موقعیت جغرافیایی مطالعه و سایر مشکلات ذاتی مانند کمبود ژنوم ویروس در نمونه‌ها، کیفیت DNA مورد استفاده و غیره نسبت داده می‌شود. بنابراین این داده‌ها بحث‌برانگیز باقی مانده‌اند.

ارتباط یک عامل *MMTV* با سرطان سینه انسان بحث‌برانگیز است. وجود توالی‌های *MMTV* یا *HMTV* بررسی شده است، اما این توالی‌ها همیشه در بافت نرمال سینه یافت نمی‌شوند، به‌عنوان مثال، توالی *MMTV* در ۴۰ درصد از سرطان‌های سینه در زنان آمریکایی و استرالیایی یافت شده است، درحالی‌که توالی‌های ویروسی تنها در ۱ درصد از بافت‌های سینه غیرمبتلا از همان بیماران شناسایی شده است (۲۹، ۳۹). در مطالعه حاضر، نتایج درختچه فیلوژنیک براساس توالی ژن env نشان داد تمام جدایه‌ها در *clade* ویروس تومور سینه انسانی (*HMTV*) قرار دارند. Pogo و همکاران در سال ۲۰۱۰ گزارش کردند که سرطان سینه تهاجمی در زنان آمریکایی شیوع بیشتری از توالی‌های ویروسی (۷۱ درصد) نسبت به سرطان‌های متاستاتیک سینه نشان می‌دهد. بروز مشابهی در سرطان سینه تهاجمی از تونس و در سرطان سینه متاستاتیک مشاهده شد. از آنجاکه این شرایط نشان‌دهنده بدخیمی‌های بسیار تهاجمی است، نتیجه‌گیری شده است که *MMTV* گاهی اوقات با یک فنوتیپ بدخیم خاص همراه است (۳۹).

ویروس *MMTV* میلیون‌ها سال است که به‌عنوان یک ویروس عفونی در موش‌ها مطرح شده است که از ظرفیت‌های ژن‌های میزبان و فاکتورهای تنظیم‌کننده ایمنی از بیولوژی میزبان خود در جهت گسترش و بیماری‌زایی خود استفاده می‌کند. اگرچه ویروس *MMTV* باعث ایجاد تومورهای سینه می‌شود، اما این امر تا اواخر زندگی اتفاق نمی‌افتد و بنابراین ویروس همچنان باقی می‌ماند و مادران آلوده می‌توانند ویروس را به فرزندان منتقل کنند. بنابراین این ویروس می‌تواند یکی از عوامل خطر مهم سرطان سینه باشد و اجرای اقدامات پیشگیرانه از جمله تشخیص و کنترل به‌موقع عفونت *MMTV* می‌تواند در برنامه‌های پیشگیری از BC در ایران و جهان مؤثر باشد.

نتیجه‌گیری نهایی: نتایج مطالعه حاضر با استفاده از تکنیک nested-PCR یک رابطه ۱۸/۸ درصدی بین سرطان سینه انسان و ویروس *MMTV* در زنان ایرانی را بیان می‌کند. این ویروس یکی از فاکتورهای خطر برای سرطان سینه محسوب می‌شود که از موش به انسان منتقل می‌گردد. بنابراین استفاده از این روش در کنار درمان سرطان توصیه می‌شود. درواقع، در صورت وجود آلودگی به ویروس از داروهای ضدویروسی هم‌زمان با درمان سرطان استفاده شود تا از عود مجدد سرطان جلوگیری شود.

سپاسگزاری

نویسندگان از افرادی که در جمع‌آوری نمونه و آسیب‌شناسی حمایت نمودند، کمال تشکر دارند.

تعارض منافع

هیچ گونه تعارض منافی در ارتباط با این مطالعه وجود ندارد.

References

- Hanahan D, Weinberg RA. Hallmarks of cancer: the next generation. *Cell*. 2011;144(5):646-74. doi: 10.1016/j.cell.2011.02.013
- Buehring GC, Shen HM, Jensen HM, Jin DL, Hudes M, Block G. Exposure to bovine leukemia virus is associated with breast cancer: a case-control study. *PloS one*. 2015;10(9):e0134304 doi: 10.1371/journal.pone.0134304
- Fakhraei F, Haghshenas MR. Human papillomaviruses and cancer. *J Pediatr Rev*. 2013;22(98):340-60. doi: 10.18502/jmums.13i2.12729
- Lawson JS, Salmons B, Glenn WK. Oncogenic viruses and breast cancer: mouse mammary tumor virus (MMTV), bovine leukemia virus (BLV), human papilloma virus (HPV), and epstein-barr virus (EBV). *Front Oncol*. 2018;8:1. doi: 10.3389/fonc.2018.00001
- Khalilian M, Hosseini SM, Emami HV, Madadgar O. High frequency of HPV genotypes 16 and 18 found in breast cancer patients: evidence for a more comprehensive HPV vaccination program in Iran. *J Adv Biomed Sci*. 2023;13(2):158-66. doi: 10.18502/jabs.v13i2.12729

6. Buehring GC, Philpott SM, Choi KY. Humans have antibodies reactive with Bovine leukemia virus. *AIDS Res Hum Retroviruses*. 2003;19(12):1105-13. doi: [10.1089/088922203771881202](https://doi.org/10.1089/088922203771881202)
7. Lee J, Kim Y, Kang CS, Cho DH, Shin DH, Yum YN, et al. Investigation of the bovine leukemia virus proviral DNA in human leukemias and lung cancers in Korea. *JKMS*. 2005;20(4):603-6. doi: [10.3346/jkms.2005.20.4.603](https://doi.org/10.3346/jkms.2005.20.4.603)
8. Khodakaram-Tafti A, Razavi Z. Morphopathological study of naturally occurring ovine pulmonary adenocarcinoma in sheep in Fars province, Iran. *IJVR. J Vet Res. (Shiraz University)*. 2010;11(2): 134. doi: [10.22099/IJVR.2010.155](https://doi.org/10.22099/IJVR.2010.155)
9. Bindra A, Muradrasoli S, Kisekka R, Nordgren H, Wärnberg F, Blomberg J. Search for DNA of exogenous mouse mammary tumor virus-related virus in human breast cancer samples. *J Gen Virol*. 2007;88(6):1806-9. doi: [10.1099/vir.0.82767-0](https://doi.org/10.1099/vir.0.82767-0)
10. Choi Y, Henrard D, Lee I, Ross S. The mouse mammary tumor virus long terminal repeat directs expression in epithelial and lymphoid cells of different tissues in transgenic mice. *J Virol*. 1987;61(10):3013-9. doi: [10.1128/JVI.61.10.3013-3019.1987](https://doi.org/10.1128/JVI.61.10.3013-3019.1987)
11. Ross SR. Using genetics to probe host-virus interactions; the mouse mammary tumor virus model. *Microbes Infect*. 2000;2(10):1215-23. doi: [10.1016/s1286-4579\(00\)01275-2](https://doi.org/10.1016/s1286-4579(00)01275-2)
12. Katz E, Dubois-Marshall S, Sims A, Faratian D, Li J, Smith E, et al. A gene on the HER2 amplicon, C35, is an oncogene in breast cancer whose actions are prevented by inhibition of Syk. *Br J Cancer*. 2010;103(3):401-10. doi: [10.1038/sj.bjc.6605763](https://doi.org/10.1038/sj.bjc.6605763)
13. Kolivand A, Haji Hajikolaei MR, Nouri M, Khosravi M, Gharibi D. Comparison to methods; Serum antibody ELISA and fecal nested-PCR to diagnose mycobacterium avium subspecies paratuberculosis subspecies infection in cattle. *J Vet Res*. 2023;78(1):1-21. doi: [10.22059/jvr.2023.348764.3299](https://doi.org/10.22059/jvr.2023.348764.3299)
14. Howell A, Sims AH, Ong KR, Harvie MN, Evans DGR, Clarke RB. Mechanisms of disease: prediction and prevention of breast cancer—cellular and molecular interactions. *Nat Rev Clin Oncol*. 2005;2(12):635. doi: [10.1038/ncponc0361](https://doi.org/10.1038/ncponc0361)
15. Ahangar-Oskouee M, Shahmahmoodi S, Jalilvand S, Mahmoodi M, Ziaee AA, Esmaeili H-A, et al. No detection of high-risk human papillomaviruses in a group of Iranian women with breast cancer. *Asian Pac J Cancer Prev*. 2014;15(9):4061-5. doi: [10.7314/apjcp.2014.15.9.4061](https://doi.org/10.7314/apjcp.2014.15.9.4061)
16. Salehpour M, Meibodi NT, Teimourpour R, Ghorani-Azam A, Sepahi S, Rostami S, et al. Frequency of human papillomavirus genotypes 6, 11, 16, 18 and 31 in paraffin-embedded tissue samples of invasive breast carcinoma, North-East of Iran. *Iran J Pathol*. 2015;10(3):192. doi: [10.7508/ijp.2015.03.003](https://doi.org/10.7508/ijp.2015.03.003)
17. Khalilian M, Hosseini SM, Madadgar O. Bovine leukemia virus detected in the breast tissue and blood of Iranian women. *Microb Pathog*. 2019;135:103566. doi: [10.1016/j.micpath.2019.103566](https://doi.org/10.1016/j.micpath.2019.103566)
18. Deligdisch L, Marin T, Lee AT, Etkind P, Holland JF, Melana S, et al. Human mammary tumor virus (HMTV) in endometrial carcinoma. *Int J Gynecol Cancer*. 2013;23(8):1423-8. doi: [10.1097/IGC.0b013e3182980fc5](https://doi.org/10.1097/IGC.0b013e3182980fc5)
19. Fukuoka H, Moriuchi M, Yano H, Nagayasu T, Moriuchi H. No association of mouse mammary tumor virus-related retrovirus with Japanese cases of breast cancer. *J Med Virol*. 2008;80(8):1447-51. doi: [10.1002/jmv.21247](https://doi.org/10.1002/jmv.21247)
20. Mant C, Gillett C, D'Arrigo C, Cason J. Human murine mammary tumour virus-like agents are genetically distinct from endogenous retroviruses and are not detectable in breast cancer cell lines or biopsies. *Virology*. 2004;318(1):393-404. doi: [10.1016/j.virol.2003.09.027](https://doi.org/10.1016/j.virol.2003.09.027)
21. Wang Y, Holland JF, Bleiweiss IJ, Melana S, Liu X, Pelisson I, et al. Detection of mammary tumor virus env gene-like sequences in human breast cancer. *Cancer Research*. 1995;55(22):5173-9.
22. Pogo BGT, Holland JF, Levine PH. Human mammary tumor virus in inflammatory breast cancer. *Cancer*. 2010;116(S11):2741-4. doi: [10.1186/s13027-016-0113-6](https://doi.org/10.1186/s13027-016-0113-6) PMID: 28053656
23. Etkind P, Du J, Khan A, Pillitteri J, Wiernik PH. Mouse mammary tumor virus-like ENV gene sequences in human breast tumors and in a lymphoma of a breast cancer patient. *Clin Cancer Res*. 2000;6(4):1273-8. doi: [10.1002/cncr.25179](https://doi.org/10.1002/cncr.25179)
24. Melana SM, Holland JF, Pogo BG. Search for mouse mammary tumor virus-like env sequences in cancer and normal breast from the same individuals. *Clin Cancer Res*. 2001;7(2):283-4. doi: [10.1002/ijc.23372](https://doi.org/10.1002/ijc.23372)
25. Naushad W, bin Rahat T, Gomez MK, Ashiq MT, Younas M, Sadia H. Detection and identification of mouse mammary tumor virus-like DNA sequences in blood and breast tissues of breast cancer patients. *Tumour Biol*. 2014;35:8077-86. doi: [10.3390/ijerph17249496](https://doi.org/10.3390/ijerph17249496)
26. Shariatpanahi S, Farahani N, Salehi AR, Salehi R. High prevalence of mouse mammary tumor virus-like gene sequences in breast cancer samples of Iranian women. *Nucleosides Nucleotides Nucleic Acids*. 2017;36(10):621-30. doi: [10.1007/s13277-014-1972-3](https://doi.org/10.1007/s13277-014-1972-3)

27. Melana SM, Picconi MA, Rossi C, Mural J, Alonio LV, Teyssié A, et al. Detection of murine mammary tumor virus (MMTV) env gene-like sequences in breast cancer from Argentine patients. *Medicina*. 2002;62(4):323-7. doi: [10.1080/15257770.2017.1360498](https://doi.org/10.1080/15257770.2017.1360498)
28. Zammarchi F, Pistello M, Piersigilli A, Murr R, Cristofano CD, Naccarato AG, et al. MMTV-like sequences in human breast cancer: a fluorescent PCR/laser microdissection approach. *J Pathol Clin Res*. 2006;209(4):436-44. doi: [10.3320/jkio.2002/45232](https://doi.org/10.3320/jkio.2002/45232)
29. Hachana M, Trimeche M, Ziadi S, Amara K, Gaddas N, Mokni M, et al. Prevalence and characteristics of the MMTV-like associated breast carcinomas in Tunisia. *Cancer Lett*. 2008;271(2):222-30. doi: [10.1002/path.1997](https://doi.org/10.1002/path.1997)
30. Slaoui M, El Mzibri M, Razine R, Qmichou Z, Attaleb M, Amrani M. Detection of MMTV-Like sequences in Moroccan breast cancer cases. *Infect Agent Cance*. 2014;9:1-7. doi: [10.1016/j.canlet.2008.06.001](https://doi.org/10.1016/j.canlet.2008.06.001)
31. Al Dossary R, Alkharsah KR, Kussaibi H. Prevalence of mouse mammary tumor virus (MMTV)-like sequences in human breast cancer tissues and adjacent normal breast tissues in Saudi Arabia. *BMC cancer*. 2018;18:1-10. doi: [10.1186/1750-9378-9-37](https://doi.org/10.1186/1750-9378-9-37)
32. Seo I, Cho J-H, Lee M-H, Park W-J, Kwon S-Y, Lee J-H. Clinical and prognostic value of human mammary tumor virus in Korean patients with breast carcinoma. *Ann Clin Lab Sci*. 2019;49(2):171-4. doi: [10.1186/s12885-018-4074-6](https://doi.org/10.1186/s12885-018-4074-6)
33. Mohammed HA, Firat M, Mansur ME. Molecular detection of mouse mammary tumor-like virus (MMTV-Like) in breast carcinoma for Iraqi female patients. *Eur J Mol Clin Me*. 2020;7(2):1533-66. doi: [10.1186/1750-8878-9-37](https://doi.org/10.1186/1750-8878-9-37)
34. Wang F-l, Zhang X-l, Yang M, Lin J, Yue Y-f, Li Y-d, et al. Prevalence and characteristics of mouse mammary tumor virus-like virus associated breast cancer in China. *Infect Agent Cance*. 2021;16(1):1-14. doi: [10.100/s13277-1972-3](https://doi.org/10.100/s13277-1972-3)
35. Nartey T, Mazzanti CM, Melana S, Glenn WK, Bevilacqua G, Holland JF, et al. Mouse mammary tumor-like virus (MMTV) is present in human breast tissue before development of virally associated breast cancer. *Infect Agent Cance*. 2017;12:1-7. doi: [10.1186/s13027-016-0113-6](https://doi.org/10.1186/s13027-016-0113-6)
36. Lawson JS, Glenn WK, Salmons B, Ye Y, Heng B, Moody P, et al. Mouse mammary tumor virus-like sequences in human breast cancer. *Cancer Res*. 2010;70(9):3576-85. doi: [10.1371/journal.pone.0048788](https://doi.org/10.1371/journal.pone.0048788)
37. Glenn WK, Heng B, Delprado W, Iacopetta B, Whitaker NJ, Lawson JS. Epstein-Barr virus, human papillomavirus and mouse mammary tumour virus as multiple viruses in breast cancer. *PloS one*. 2012;7(11):e48788. doi: [10.1371/journal.pone.0048788](https://doi.org/10.1371/journal.pone.0048788)
38. Lawson JS, Salmons B, Glenn W. Oncogenic viruses and breast cancer Mouse mammary tumour virus (MMTV), bovine leukaemia virus (BLV), human papilloma virus (HPV), Epstein Barr virus (EBV). *Front Oncol*. 2018;8(1):1-18. doi: [10.1158/0008-5472.CAN-09-4160](https://doi.org/10.1158/0008-5472.CAN-09-4160)
39. Choi Y, Kappler JW, Marrack P. A superantigen encoded in the open reading frame of the 3' long terminal repeat of mouse mammary tumour virus. *Nature*. 1991;350(6315):203-7. doi: [10.1038/350203a0](https://doi.org/10.1038/350203a0)